



TUGAS AKHIR- SB141510

**PENGARUH IRADIASI SINAR GAMMA PADA
MIKROALGA *Nannochloropsis* sp. TERHADAP
KANDUNGAN BIOMASSA DAN TOTAL LIPID**

**IKA PUSPITA SARI
1512100048**

**Dosen Pembimbing
Dini Ermavitalini, S.Si., M.Si.
Dr.tech Endry Nugroho Prasetyo, MT.**

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
SURABAYA 2016**



FINAL PROJECT- SB141510

EFFECT GAMMA RAYS IRRADIATION TO *Nannochloropsis* sp. ON THE BIOMASS AND TOTAL LIPID CONTENT

**IKA PUSPITA SARI
1512100048**

**Supervisor
Dini Ermavitalini, S.Si., M.Si.
Dr.tech Endry Nugroho Prasetyo, MT.**

**BIOLOGY DEPARTMENT
FACULTY OF MATHEMATICS AND SCIENCES
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
SURABAYA 2016**

LEMBAR PENGESAHAN

**PENGARUH IRADIASI SINAR GAMMA PADA
MIKROALGA *Nannochloropsis* sp. TERHADAP
KANDUNGAN BIOMASSA DAN TOTAL LIPID**

TUGAS AKHIR

Diajukan Untuk Memenuhi Salah Satu Syarat
Memperoleh Gelar Sarjana Sains
pada
Jurusan S-1 Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Institut Teknologi Sepuluh Nopember

Oleh:

**IKA PUSPITA SARI
NRP. 1512 100 048**

Disetujui oleh Pembimbing Tugas Akhir
Dini Ermavitalini, S.Si., M. Si..... (Pembimbing 1)
Dr. techn. Endry Nugroho P., M.T..... (Pembimbing 2)

Surabaya, 27 Juni 2016



Mengetahui
Ketua Jurusan Biologi

Dr. Dewi Hidayati, M.Si
NIP. 19691121 199802 2 001

PENGARUH IRADIASI SINAR GAMMA PADA
MIKROALGA *Nannochloropsis* sp. TERHADAP
KANDUNGAN BIOMASSA DAN TOTAL LIPID

Nama Mahasiswa : IKA PUSPITA SARI
NRP : 1512 100 048
Jurusan : Biologi
Dosen Pembimbing : Dini Ermavitalini, S.Si, M.Si.
Dr.techn. Endry Nugroho P., MT.

ABSTRAK

Nannochloropsis sp. merupakan salah satu spesies yang sangat menjanjikan untuk dikembangkan di zaman sekarang. *Nannochloropsis* sp. memiliki kandungan lipid yang cukup tinggi yaitu antara 31-68% berat kering. Pada penelitian ini iradiasi sinar Gamma dilakukan dengan variasi dosis yaitu 0,2,4,6,10 Gy. Penelitian ini bertujuan untuk menguji pengaruh perlakuan tersebut terhadap biomassa, kandungan lipid total dan kandungan asam lemak dari mikroalga *Nannochloropsis* sp. Pengukuran biomassa dan kandungan lipid total dilakukan pada akhir fase eksponensial akhir pada kurva pertumbuhan masing-masing perlakuan. Analisa data yang digunakan dalam penelitian ini adalah analisa data deskriptif dan statistik. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan iradiasi sinar Gamma terbukti berpengaruh terhadap peningkatan biomassa, kandungan total lipid dan profil asam lemak dari mikroalga *Nannochloropsis* sp dan dosis yang paling optimal yang dapat digunakan adalah 6 dan 10Gy. Mikroalga *Nannochloropsis* sp. yang diiradiasi dengan dosis 10 Gy memiliki kandungan 9 jenis asam lemak dan mikroalga *Nannochloropsis* sp. yang tidak diiradiasi memiliki kandungan 6 jenis asam lemak.

Kata kunci: Dosis, Iradiasi, Mikroalga, Nannochloropsis sp.

EFFECT GAMMA RAYS IRRADIATION TO MIKROALGAE
Nannochloropsis sp. ON THE BIOMASS AND TOTAL LIPID
CONTENT

Student Name : IKA PUSPITA SARI
NRP : 1512 100 048
Department : Biologi
Supervisor : Dini Ermavitalini., S.Si., M.Si.
Dr.techn. Endry Nugroho P., MT.

ABSTRACT

Nannochloropsis sp. has been identified as a promising feed stock for biodiesel production in recent years. *Nannochloropsis* sp. having lipid content high enough between 31-68 % heavy dry. Besides microalgae is readily adapt and having the time of rapid growth. In this research, Irradiation was doing in different doses, including 0,2,4,6,10 Gy is choosen as a method to know the effect of this method on dry biomass, total lipid content and fatty acid profile of microalgae *Nannochloropsis* sp. Measuring content of biomass and lipids are performed on the final phase of the exponential growth at the end of each of the treatment. Data analys that used for this research are descriptive and statistic. Besed on the research that has been done, irradiated Gamma rays proven widening opportunities for bimass and the total lipid of mikroalgae *Nannochloropsis* sp. and the most opotimal doses that can use to irradiated is 6 and 10Gy. Mikroalgae *Nannochloropsis* sp. that is irradiated with dosage 10Gy having 9 content kind of fatty acid and mikroalga *Nannochloropsis* sp. that do not irradiated having the womb six categories of fatty acid

Keyword: doses, Gamma rays, Irradiation, *Nannochloropsis* sp., triacylglycerol.

KATA PENGANTAR

Alhamdulillahirabbil'alamin, Segala Puji bagi Allah SWT yang telah memberikan Rahmat dan Anugerah sehingga penulis mampu menyelesaikan laporan Tugas Akhir dengan Judul **IRADIASI SINAR GAMMA TERHADAP MIKROALGA *Nannochloropsis* sp. UNTUK MENINGKATKAN KANDUNGAN BIOMASSA DAN TOTAL LIPID**

Penelitian ini dilakukan mulai bulan September 2015 hingga Januari 2016. Penyusunan Tugas Akhir ini merupakan suatu syarat untuk memperoleh gelar kesarjanaan strata 1 (S1) pada Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya. Penyusunan Proposal Tugas Akhir ini telah melibatkan bimbingan dan bantuan dari berbagai pihak. Penulis mengucapkan terimakasih kepada Ibu Dini Ermavitalini., S.Si., M.Si. selaku pembimbing pertama, Bapak Dr. techn. Endry Nugroho Prasetyo, M.T. selaku pembimbing kedua, ibu Ir. Sri Nurhatika., dan Ibu Wirdhatul Muslihatin, S.Si., M.Si. selaku tim penguji. Penulis juga mengucapkan terima kasih dan penghargaan yang tinggi kepada Ibunda Saodah dan Ayahanda Nyoto Utomo dan adik Inna dan Ratih yang selalu memberikan do'a, motivasi, kasih sayangnya. Teman-teman PPM KH2 serta mahasiswa biologi ITS angkatan 2012, dan seluruh pihak yang telah membantu.

Penulis menyadari masih terdapat kekurangan pada proposal ini sehingga saran dan kritik dapat membantu untuk menyempurnakan proposal ini. Namun, penulis berharap bahwa proposal ini dapat bermanfaat dan memberikan wawasan yang luas bagi semua pihak.

Surabaya, 01 Juni 2016

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN PENGESAHAN	ii
ABSTRAK	iii
<i>ABSTRACT</i>	v
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xiii
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Permasalahan	3
1.3 Batasan Masalah	3
1.4 Tujuan	3
1.5 Manfaat	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Mikroalga	5
2.2 <i>Nannochloropsis</i> sp.	6
2.3 Kultur <i>Nannochloropsis</i> sp.	8
2.4 Lipid	13
2.5 Tahap Sintesis Lemak pada Mikroalga	14
2.6 Iradiasi sinar Gamma	18
2.7 Dosis Iradiasi	19
2.9 GC-MS	21
BAB III METODOLOGI	
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	25
3.2 Metode yang Digunakan	25
3.2.1 Sterilisasi Alat dan Media Kultur	25
3.2.2 Persiapan Pupuk untuk Media Kultur	
<i>Nannochloropsis</i> sp	25
3.2.3 Penentuan Umur Starter	26
3.2.4 Pembuatan Starter	26

3.2.5 Iradiasi Mikroalga.....	26
3.2.6 Penentuan Waktu Pemanenan	27
3.2.7 Rancangan Penelitian	27
3.2.8 Pemanenan dan Analisis Biomassa	
<i>Nannochloropsis</i> sp.....	28
3.2.9 Pengukuran Kandungan <i>Lipid Content</i>	28
3.3 Analisis Data	29
3.3.1 Analisis Menggunakan GC.....	29
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Pengaruh Iradiasi Sinar Gamma ⁶⁰ Co Terhadap Profil Pertumbuhan <i>Nannochloropsis</i> sp.....	
4.2 Pengaruh Iradiasi Sinar Gamma ⁶⁰ Co Terhadap Biomassa dan Total Lipid <i>Nannochloropsis</i> sp.....	31
4.3 Pengaruh Iradiasi Sinar Gamma ⁶⁰ Co Terhadap Profil Asam Lemak <i>Nannochloropsis</i> sp.....	33
	36
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Kesimpulan.....	
5.2 Saran.....	39
	39
DAFTAR PUSTAKA	
LAMPIRAN	41
	47

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1	Sel tunggal <i>Nannochloropsis</i> sp. perbesaran 100x.....
	7
Gambar 2.2	Kurva Pertumbuhan Mikroalga (Isnansetyo & Kurniastuty 1995).....
	13
Gambar 2.3	Siklus sintesis asam lemak dalam plastida.....
	15
Gambar 2.4	Dua jalur sintesis GCL (glycerolipid) dalam kloroplas dan retikulum endoplasma.....
	17
Gambar 2.5	Reaksi Pembentukan Biodiesel.....
	22
Gambar 4.1	Profil Pertumbuhan <i>Nannochloropsis</i> sp.....
	31

DAFTAR TABEL

		Halaman
Tabel 3.1	Pengumpulan Data.....	23
Tabel 4.1	Hasil Analisis Biomassa dan Total Lipid mikroalga <i>Nannochloropsis</i> sp.....	32
Tabel 4.2	Analisis Profil Asam Lemak Mikroalga <i>Nannochloropsis</i> sp.....	35

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Cadangan dan produksi bahan bakar minyak bumi (fosil) di Indonesia mengalami penurunan 10% setiap tahunnya (Bambang, 2006) sedangkan tingkat konsumsi minyak rata-rata naik 6% per tahun (Suroso, 2005). Permasalahan yang terjadi di Indonesia saat ini yaitu produksi bahan bakar minyak bumi tidak dapat mengimbangi besarnya konsumsi bahan bakar minyak, sehingga Indonesia melakukan impor minyak untuk memenuhi kebutuhan energi bahan bakar minyak setiap harinya (Rama, 2007). Berdasarkan permasalahan tersebut maka perlu dikembangkan suatu energi alternatif.

Salah satu bahan bakar alternatif yang dikembangkan adalah biodiesel (Briggs, 2004). Biodiesel merupakan bahan bakar alternatif yang tidak beracun dan biodegradable yang diperoleh dari sumber terbarukan (Sharif *et al.*, 2007). Biodiesel dapat dijadikan sebagai bahan bakar pengganti solar, sebab komposisi fisika dan kimia antara biodiesel dan solar tidak jauh berbeda (Kuncahyo *et al.*, 2013). Mikroalga merupakan salah satu organisme yang dinilai ideal dan potensial untuk dijadikan bahan baku produksi biodiesel karena mengandung *triacylglycerol* (TAG) yang tinggi (Li *et al.*, 2008). Selain itu laju pertumbuhan yang tinggi pada mikroalga akan menghasilkan biomassa yang besar pada waktu yang singkat menjadikannya memiliki tingkat efisiensi yang baik bila diaplikasikan pada tingkat industri (Ahmad *et al.*, 2011).

Salah satu spesies yang banyak digunakan untuk diteliti adalah *Nannochloropsis* sp. (Doan *et al.*, 2011). *Nannochloropsis* sp. memiliki sel yang berwarna kehijauan, tidak motil, dan tidak berflagela. Selnya berbentuk bola berukuran sedang dengan diameter 2-4 μm , dan memiliki kloroplas (Hu and Gao, 2003). *Nannochloropsis* sp. memiliki kandungan lipid yang utama yaitu C14:0, C16:1, C18:1, C20:4 dan C20:5 (Simionato *et al.*, 2013).

Produksi lipid pada suatu spesies mikroalga merupakan suatu parameter penting yang dapat digunakan untuk menguji potensi spesies mikroalga untuk dijadikan bahan baku biodiesel (Su *et al.*, 2011). Lipid dapat dengan mudah dikonversi menjadi biodiesel melalui reaksi transesterifikasi (Chisti, 2008). Kandungan lemak yang cukup tinggi yakni sebesar 12,0-53,0 % berat kering biomassa, akan meningkat dan dapat mencapai kandungan lemak 90% dari berat keringnya jika berada dalam kondisi stress atau tercekam (Mata *et al.*, 2010).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Yubin *et al* (2013) diketahui bahwa efek *heavy-ion irradiation mutagenesis* yang dilakukan pada *Nannochloropsis oceanica* IMET1 dengan dosis 20, 40, 60, 80, 100, 120, 140 dan 160 Gy berpengaruh pada peningkatan akumulasi biomassa dari *Nannochloropsis oceanica* sebesar 19% dan produktivitas lipid yang mengalami peningkatan 28% yaitu dari 211 menjadi 271 mg L⁻¹ D⁻¹. Pada analisa kandungan lipid mengindikasikan peningkatan sebesar 14%. Namun pada analisa profil asam lemak menunjukkan hasil yang negative yaitu tidak adanya perbedaan hasil antara strain yang normal dan strain yang mutan (Yubin., *et al*, 2013).

Penelitian dengan menggunakan teknik iradiasi merupakan cara yang belum banyak dikembangkan. Iradiasi merupakan pemancaran energi melalui suatu materi atau ruang dalam bentuk panas, partikel, atau gelombang elektromagnetik (foton) dari suatu sumber energi (BATAN, 2008). Iradiasi dapat menginduksi terjadinya mutasi karena sel yang teradiasi akan dibebani oleh tenaga kinetik yang tinggi, sehingga dapat mempengaruhi atau mengubah reaksi kimia sel tanaman yang pada akhirnya dapat menyebabkan terjadinya perubahan susunan kromosom tanaman (Poespodarsono, 1988).

Teknik iradiasi merupakan salah satu cara yang berpotensi untuk dikembangkan dalam upaya meningkatkan kandungan lipid pada *Nannochloropsis*. Oleh karena itu dalam penelitian ini akan dilakukan iradiasi menggunakan panjang gelombang 2,4,6 dan 10 Gy yang diharapkan akan mampu dijadikan sebagai spesies

unggul yang dapat digunakan sebagai bahan baku biodiesel karena mengandung kadar lipid yang tinggi

1.2 Rumusan Masalah

Iradiasi sinar Gamma merupakan metode yang efisien untuk dikembangkan dalam hal rekayasa genetika untuk mendapatkan strain baru mikroalga *Nannochloropsis* sp. Berdasarkan hal tersebut, maka dirumuskan masalah yaitu bagaimana pengaruh iradiasi sinar gamma terhadap kandungan biomassa, total lipid dan kandungan asam lemak dalam spesies *Nannochloropsis* sp.

1.3 Batasan Masalah

Adapun batasan masalah dalam penelitian tugas akhir ini diantaranya adalah :

1. Mikroalga yang digunakan yaitu spesies *Nannochloropsis* sp.
2. Radiasi sinar gamma ^{60}Co dilakukan dengan iradiator Gamma chamber 400A dengan dosis 2,4,6 dan 10 Gy di Badan Tenaga Nuklir Nasional (Jakarta).
3. Parameter yang diukur dalam penelitian ini adalah laju pertumbuhan dari *Nannochloropsis* sp., kadar total lipid *Nannochloropsis* sp. dan kandungan asam lemak dari *Nannochloropsis* sp.

1.4 Tujuan

Adapun tujuan dari penelitian tugas akhir ini adalah :

1. Mengetahui pengaruh iradiasi sinar gamma terhadap biomassa dan total lipid dari spesies mikroalga *Nannochloropsis* sp.
2. Mengetahui dosis terbaik dari iradiasi sinar gamma yang dapat berpengaruh pada kandungan biomassa dan total lipid dari spesies mikroalga *Nannochloropsis* sp.
3. Mengetahui kandungan asam lemak pada spesies mikroalga *Nannochloropsis* sp. dan spesies mikroalga *Nannochloropsis* sp. yang diiradiasi menggunakan dosis 10 Gy

1.5 Manfaat

Adapun manfaat dari penelitian tugas akhir ini yaitu mengetahui dampak dari iradiasi yang diharapkan dapat berperan dalam meningkatkan kadar biomassa dan total lipid pada *Nannochloropsis* sp. yang berpotensi digunakan sebagai bahan baku biodiesel.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Mikroalga

Mikroalga merupakan mikroorganisme (ukuran 1-50 μm) yang menggunakan energi cahaya dan air untuk memetabolisme CO_2 menjadi senyawa anorganik CH_2O yang dengan proses lanjut dapat diubah menjadi biodiesel (Ayustama, 2007). Mikroalga umumnya bersel satu atau berbentuk benang. Habitat hidupnya meliputi seluruh wilayah perairan di dunia, baik lingkungan air laut maupun air tawar. Organisme ini memiliki kemampuan mengubah energi matahari, air, dan karbon dioksida layaknya tumbuhan tingkat tinggi (Kawaroe, 2010). Mikroalga adalah salah satu organisme yang dapat tumbuh pada rentang kondisi yang luas di permukaan bumi. Mikroalga biasanya ditemukan pada tempat-tempat yang lembab atau benda-benda yang sering terkena air dan banyak hidup pada lingkungan berair pada lingkungan di permukaan bumi. Mikroalga dapat hidup di semua tempat yang memiliki cukup sinar matahari, air dan karbondioksida (Chisti, 2007).

Mikroalga merupakan tanaman yang paling efisien dalam menangkap dan memanfaatkan energi matahari dan CO_2 untuk keperluan fotosintesis. Hal ini menyebabkan mikroalga memiliki waktu pertumbuhan yang cepat dibandingkan dengan tanaman darat, yaitu mulai hitungan hari sampai beberapa minggu (Uju dan Wahyuni, 2007). Banyak sekali manfaat dari mikroalga hijau ini yang dapat digunakan untuk kepentingan manusia, antara lain sebagai bahan makanan, pakan ternak, obat-obatan, campuran pupuk, dan sumber bahan bakar (Chisti, 2007).

2.2.1 Potensi *Nannochloropsis* sp. sebagai Biodiesel

Mikroalga sebagai salah satu komoditi hasil perairan yang saat ini telah menjadi alternatif untuk dikembangkan karena memiliki potensi yang besar untuk dimanfaatkan sebagai pakan maupun pangan. Kebanyakan spesies mikroalga menghasilkan

produk yang khas seperti karotenoid, antioksidan, dan asam lemak (Hossain *et al.*, 2008).

Potensi *Nannochloropsis* sp. tidak hanya sebatas itu saja. Dalam tubuh *Nannochloropsis* sp. banyak mengandung lipid atau minyak organik berupa triasilgliserol (TAG). Triasilgliserol (TAG) merupakan senyawa dasar pembentuk bahan bakar yang diproses dengan cara ekstraksi dan diubah menjadi biodiesel (Chisti, 2007). Mikroalga *Nannochloropsis* sp. dapat dibudidayakan di Indonesia karena mudah tumbuh di daerah tropis dan memiliki kandungan minyak cukup tinggi. Biodiesel dari mikroalga perlu dikembangkan karena mikroalga lebih banyak memberikan hasil minyak dibandingkan dengan tanaman lainnya (Teresa *et al.*, 2010).

2.2 *Nannochloropsis* sp.

2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi

Klasifikasi *Nannochloropsis* sp. menurut Anon *et al.* (2009) adalah sebagai berikut:

Regnum	: Chromista
Divisio	: Chromophyta
Clasiss	: Eustigmatophyceae
Ordo	: Eustigmatales
Familia	: Eustigmataceae
Genus	: <i>Nannochloropsis</i>
Spesies	: <i>Nannochloropsis</i> sp.

Nannochloropsis adalah genus laut tunggal dari Eustigmatophyceae (Hu & Gao, 2004). *Nannochloropsis* sp. memiliki ukuran sel 2 – 4 mikrometer, berwarna hijau dan memiliki dua flagella (heterokontous) yang salah satu flagella berambut tipis. Ciri khas dari spesies ini adalah memiliki dinding sel yang terbuat dari komponen selulosa (Hoek *et al.*, 1998). *Nannochloropsis* sp. merupakan pakan yang populer untuk rotifer, artemia, dan pada umumnya merupakan organisme

penyaring (Hu & Gao, 2004). Bentuk sel tunggal *Nannochloropsis* sp. dapat dilihat pada Gambar 2.1.

Kepadatan optimum yang dapat dicapai untuk skala laboratorium 50-60 juta sel/mL, skala semi massal 20-25 juta sel/mL dan massal 15-20 juta sel/mL dengan masa kultur 4-7 hari (Hu & Gao, 2004). *Nannochloropsis* sp. memiliki kandungan lipid yang cukup tinggi yaitu antara 31-68% berat kering (Hu & Gao, 2006). *Nannochloropsis* sp. memiliki sejumlah kandungan pigmen dan nutrisi seperti protein (52,11%), karbohidrat (16%), lemak (27,64%), vitamin C (0,85%), dan klorofil A (0,89%). Selnya berbentuk bola dan berukuran kecil (Anon, *et al.*, 2009).



Gambar 2.1 Sel tunggal *Nannochloropsis* sp. perbesaran 100x (Biondi & Tredici, 2011).

2.2.2 Habitat dan Ekologi

Nannochloropsis sp. tidak hidup secara individual di alam akan tetapi hidup berkoloni (Suadi, 2012). *Nannochloropsis* sp. bersifat kosmopolit dapat tumbuh pada salinitas 0-35‰. Salinitas optimum untuk pertumbuhannya adalah 25-35‰, dan suhu 25-30 °C merupakan kisaran suhu yang optimal. Mikroalga ini dapat tumbuh baik pada kisaran pH 8-9,5 dan intensitas cahaya 100-10000 lux. Kepadatan optimum yang dapat dicapai untuk skala laboratorium 50-60 juta sel/mL dengan masa kultur 4-7 hari (Hu & Gao, 2004).

2.2.3 Reproduksi

Proses reproduksi *Nannochloropsis* sp. dapat dibagi menjadi 4 tahap yaitu:

1. Tahap pertumbuhan, pada tahap ini sel tumbuh membesar
2. Tahap pemasakan awal saat terjadi peningkatan aktivitas sintesa yang merupakan persiapan awal pembentukan autospora.
3. Tahap pemasakan akhir, pada tahap ini autospora terbentuk
4. Tahap pelepasan autospora, dinding sel induk akan pecah dan diikuti oleh pelepasan autospora yang akan tumbuh menjadi sel induk muda (Zahara, 2003).

Pembiakan *Nannochloropsis* sp. dalam jumlah besar telah dilakukan melalui berbagai macam cara, seperti kolam besar di tempat terbuka dan tangki pada kantung polietilen 50-500 liter atau tabung serat gelas yang diletakkan di dalam ruangan dengan cahaya tambahan. Proses pembiakan menggunakan sistem tersebut dapat menimbulkan masalah, antara lain mikroalga mudah terkontaminasi, dan produktifitas serta konsentrasi biomasnya rendah. *Nannochloropsis* sp. merupakan salah satu mikroalga air laut yang umum dikembangkan pada tempat penetasan ikan sebagai makanan untuk *rotifer* (Sukeni, 1999).

2.3 Kultur *Nannochloropsis* sp.

2.3.1 Faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan *Nannochloropsis* sp.

Faktor eksternal berkaitan dengan ketersediaan unsur hara makro dan mikro serta kondisi lingkungan. Faktor-faktor lingkungan yang berpengaruh terhadap pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. antara lain cahaya, suhu, pH, salinitas, dan kandungan oksigen terlarut (Rostini, 2010).

1. Intensitas Cahaya Matahari

Faktor cahaya matahari yang masuk kedalam air akan mempengaruhi sifat optis air. Sebagian cahaya matahari tersebut akan diabsorpsi dan sebagian lagi akan dipantulkan keluar dari permukaan air. Kondisi optik dalam air selain dipengaruhi oleh intensitas cahaya matahari, juga dipengaruhi oleh berbagai substrat dan benda lain yang terdapat dalam air, misalnya oleh plankton yang ada dalam air (Barus, 2004). Bagi organisme air, intensitas cahaya berfungsi sebagai alat orientasi yang akan mendukung kehidupan organisme tersebut dalam habitatnya. Intensitas cahaya yang optimum untuk *Nannochloropsis* sp. berada pada intensitas 4000 lux. Hal ini menunjukkan bahwa setelah titik intensitas tersebut dicapai, maka fotosintesis tidak lagi meningkat sehubungan dengan peningkatan porsi intensitas cahaya (Rostini, 2007).

Nannochloropsis sp. membutuhkan cahaya untuk berfotosintesis. Kurangnya cahaya yang dibutuhkan untuk aktifitas fotosintesis akan menyebabkan proses fotosintesis tidak berlangsung normal sehingga mengganggu metabolisme selanjutnya (Andriyono, 2001). Periode penyinaran dapat berpengaruh dalam proses sintesa bahan organik pada fotosintesis karena hanya dengan energi yang cukup proses tersebut dapat berjalan dengan lancar. Perlakuan fotoperiode 18 jam terang dan 6 jam gelap merupakan perlakuan yang memiliki tahap pertumbuhan yang paling cepat bagi mikroalga *Nannochloropsis* sp. (Safitri, 2013).

2. Suhu

Pola suhu ekosistem air dipengaruhi oleh berbagai faktor seperti intensitas cahaya matahari, pertukaran panas antara cahaya matahari dengan udara sekelilingnya. Suhu air sangat mempengaruhi aktivitas fisiologis dari organisme air seperti dijelaskan dalam hukum Van't Hoff, kenaikan suhu sebesar 10°C (hanya pada kisaran yang ditolerir) akan meningkatkan laju

metabolisme dari organisme sebesar 2 – 3 kali lipat. Akibat meningkatnya laju metabolisme akan menyebabkan konsumsi oksigen meningkat, sementara dengan naiknya suhu akan menyebabkan kelarutan oksigen dalam air menjadi berkurang. Kisaran temperatur optimal bagi pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. adalah antara 25-30 °C (Barus, 2004).

Suhu media pemeliharaan di ukur dengan menggunakan thermometer. Thermometer di masukkan ke dalam air selama kurang lebih dua menit kemudian pembacaan nilai suhu dilakukan pada saat thermometer masih berada di dalam air agar nilai suhu yang terukur tidak dipengaruhi oleh suhu udara. Pembacaan nilai suhu sampai menunjukkan nilai yang konstan (Anita *et al.*, 2010).

3. pH

Nilai pH menyatakan nilai konsentrasi ion hydrogen dalam suatu larutan. Kemampuan air untuk mengikat atau melepaskan sejumlah ion hidrogen akan menunjukkan apakah larutan tersebut bersifat asam atau basa. Organisme air dapat hidup dalam suatu perairan yang mempunyai nilai pH netral dengan kisaran toleransi antara asam lemah sampai basa lemah (Anita *et al.*, 2010). Nilai pH medium kultur merupakan faktor pengontrol yang menentukan kemampuan biologis mikroalga dalam memanfaatkan unsur hara. Nilai pH yang terlalu tinggi misalnya, akan mengurangi aktifitas fotosintesis mikroalga. Pada umumnya *Nannochloropsis* sp. mampu bertoleransi terhadap kisaran salinitas dan pH yang cukup lebar. pH yang sesuai untuk pertumbuhannya berkisar antara 4,5 – 10 (Rostini, 2007). Mikroalga ini dapat tumbuh optimum pada kisaran pH 8-9,5 (Hu & Gao, 2004).

4. Salinitas

Salinitas merupakan nilai yang menunjukkan jumlah garam-garam terlarut dalam suatu volum air yang biasanya dinyatakan dengan satuan promil (‰). Kandungan utama dari air laut dibentuk oleh ion Na⁺ dan Cl⁻, ditambah berbagai jenis unsur

lain yang jumlahnya relatif sedikit (Anita *et al.*, 2010). *Nannochloropsis* sp. memiliki toleransi kisaran salinitas yang tinggi dan dapat hidup pada kisaran salinitas 0-35 ppt (dari air tawar sampai air laut). Spesies ini dapat tumbuh baik pada salinitas 15-35 ppt (Rostini, 2007).

5. Oksigen Terlarut (DO)

Oksigen terlarut merupakan suatu faktor yang sangat penting di dalam ekosistem air, terutama sekali dibutuhkan untuk proses respirasi bagi sebagian besar organisme air. Umumnya, kelarutan oksigen dalam air sangat terbatas. Dibandingkan dengan kadar oksigen di udara yang mempunyai konsentrasi sebanyak 21%. Air hanya mampu menyerap oksigen sebanyak 1% saja. Nilai oksigen terlarut disuatu perairan mengalami fluktuasi harian. Fluktuasi ini selain dipengaruhi oleh perubahan suhu juga dipengaruhi oleh aktivitas fotosintesis dari tumbuhan yang menghasilkan oksigen. Nilai oksigen terlarut di perairan sebaiknya berkisar antara 6- 8mg/l (Barus, 2004).

2.3.2 Fase Pertumbuhan Mikroalga

Isnansetyo & Kurniastuty (1995), membagi pola pertumbuhan atau kurva pertumbuhan tersebut menjadi 5 fase pertumbuhan sebagai berikut.

1. Fase Lag (istirahat)

Dimulai setelah penambahan inokulum ke dalam media kultur hingga beberapa saat sesudahnya. Pada fase ini peningkatan paling signifikan terlihat pada ukuran sel karena secara fisiologis mikroalga menjadi sangat aktif. Proses sintesis protein baru juga terjadi dalam fase ini. Metabolisme berjalan tetapi pembelahan sel belum terjadi sehingga kepadatan sel belum meningkat karena mikroalga masih beradaptasi dengan lingkungan barunya.

2. Fase Logaritmik (log) atau Eksponensial

Fase ini dimulai dengan pembelahan sel dengan laju pertumbuhan yang meningkat secara intensif. Bila kondisi

kultur optimum maka laju pertumbuhan pada fase ini dapat mencapai nilai maksimal dan pola laju pertumbuhan dapat digambarkan dengan kurva logaritmik. Pada fase ini merupakan fase terbaik untuk memanen mikroalga untuk keperluan pakan ikan atau industri.

3. Fase Penurunan Laju Pertumbuhan

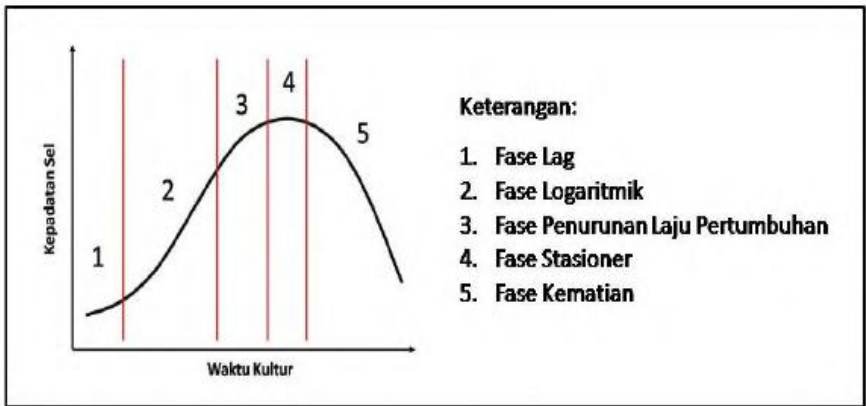
Pembelahan sel tetap terjadi pada fase ini, namun tidak seintensif fase sebelumnya, sehingga laju pertumbuhan juga mengalami penurunan dibandingkan fase sebelumnya.

4. Fase Stasioner

Pada fase ini laju reproduksi dan laju kematian relatif sama. Penambahan dan pengurangan jumlah mikroalga seimbang sehingga kepadatannya relatif tetap (stasioner).

5. Fase Kematian

Fase ini ditandai dengan laju kematian yang lebih besar daripada laju reproduksi sehingga jumlah sel mengalami penurunan secara geometrik. Penurunan kepadatan sel fitoplankton ditandai dengan perubahan kondisi optimum yang dipengaruhi oleh temperatur, cahaya, pH medium, ketersediaan hara, dan beberapa faktor lain yang saling terkait satu sama lain. Secara skematis pola pertumbuhan mikroalga dapat dilihat pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2 Kurva Pertumbuhan Mikroalga (Isnansetyo & Kurniastuty 1995).

2.4 Lipid

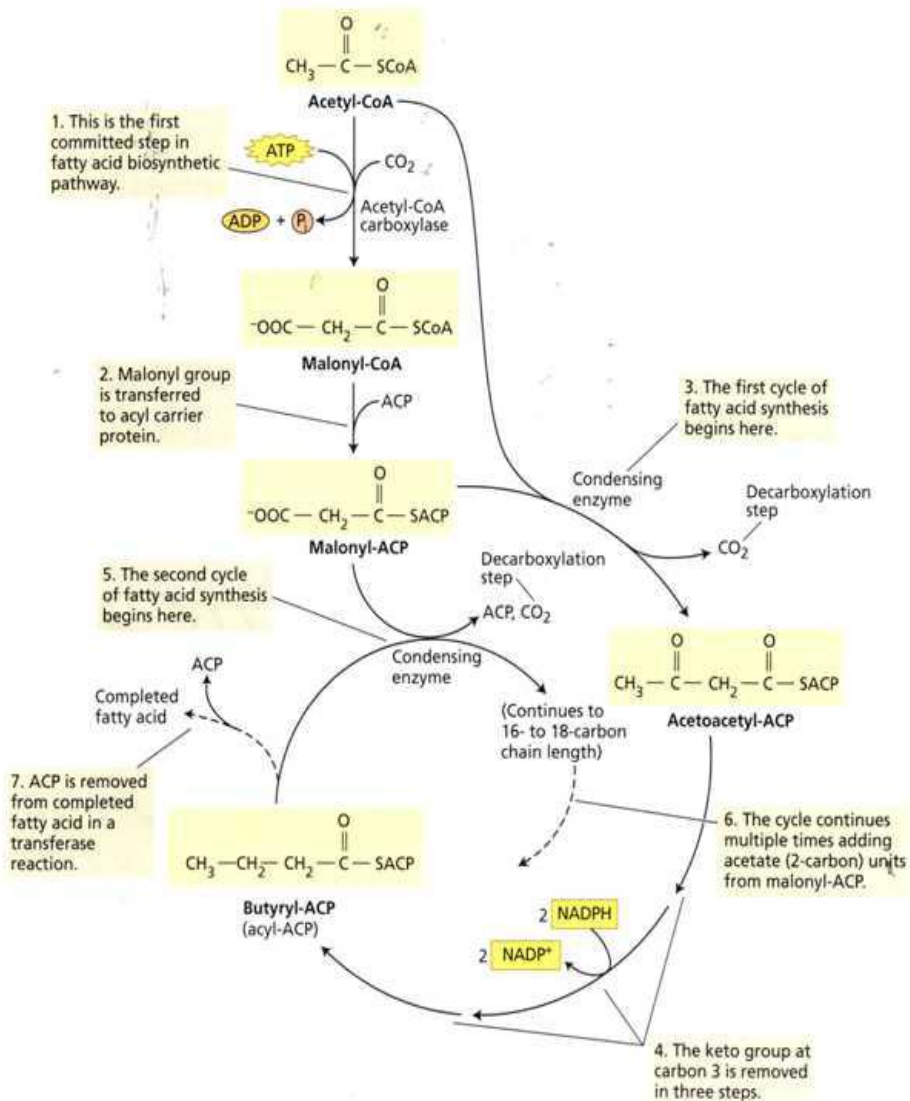
Lipid adalah senyawa organik yang terdapat di dalam makhluk hidup yang tidak larut di dalam air tetapi larut di dalam pelarut nonpolar seperti heksan, dietileter. Komponen utama lipida adalah lemak, lebih 95% lipida adalah lemak (McKee & McKee, 2003). Lipid juga dapat dikelompokkan berdasarkan gugus polar dan non polar. Lipid yang hanya mengandung gugus non polar disebut lipid non polar atau lipid netral, sebagai contoh kelompok lemak (*fat*). Lipid non polar berperan dalam metabolisme, khususnya sebagai cadangan energi. Lipid yang mengandung gugus polar dan gugus non polar disebut lipid polar, sebagai contoh fosfolipid. Lipid polar berperan di dalam membran sel dan membran organel untuk melindungi isi sel dan organel dari lingkungan luar sel (Boyer, 2002).

Lipid yang umumnya diakumulasi oleh mikroorganisme adalah TAG, karena TAG merupakan komponen utama cadangan energi dalam sel. Akumulasi molekul triacylglycerol terjadi dalam struktur subsel spesifik, *oil body* (Dahlqvist *et al.*, 2000). Triasilgliserol (TAG) umumnya berfungsi sebagai penyimpanan energi dalam mikroalga yang, setelah diekstrak. Triasilgliserol

(TAG) ini dapat dengan mudah dikonversi menjadi biodiesel melalui reaksi transesterifikasi (Chisti, 2008). Transesterifikasi (biasa disebut dengan alkoholisis) adalah tahap konversi dari trigliserida (minyak nabati) menjadi alkil ester, melalui reaksi dengan alkohol, dan menghasilkan produk samping yaitu gliserol (Mekhilef, 2010).

2.5 Tahap Sintesis Lemak pada Mikrolaga

Biosintesis asam lemak melibatkan siklus kondensasi dari dua unit karbon yang berasal dari acetyl-CoA. Asam lemak disintesis secara khusus dalam plastida. Enzim dari jalur biosintesis terikat dalam suatu *kompleks* FAS (*fatty acid synthase*). *Kompleks* ini mungkin membuat serangkaian reaksi terjadi lebih efisien. Selanjutnya rantai acyl terikat secara kovalent dengan protein ACP (*acyl carrier protein*). Rantai acyl yang bergabung dengan ACP disebut acyl-ACP. Langkah pertama yaitu sintesis MCoA (malonyl-CoA) dari ACoA (acetyl-CoA) dan CO_2 dengan enzim *acetyl-CoA carboxylase* (Sasaki *et al.*, 1995). Pengendalian enzim *acetyl-CoA carboxylase* menjadi penentu tingkat sintesis asam lemak (Ohlrogge & Jaworski, 1997). Malonyl-CoA kemudian bereaksi dengan ACP untuk menghasilkan malonyl-ACP melalui empat tahapan seperti yang terlihat pada gambar 2.3.



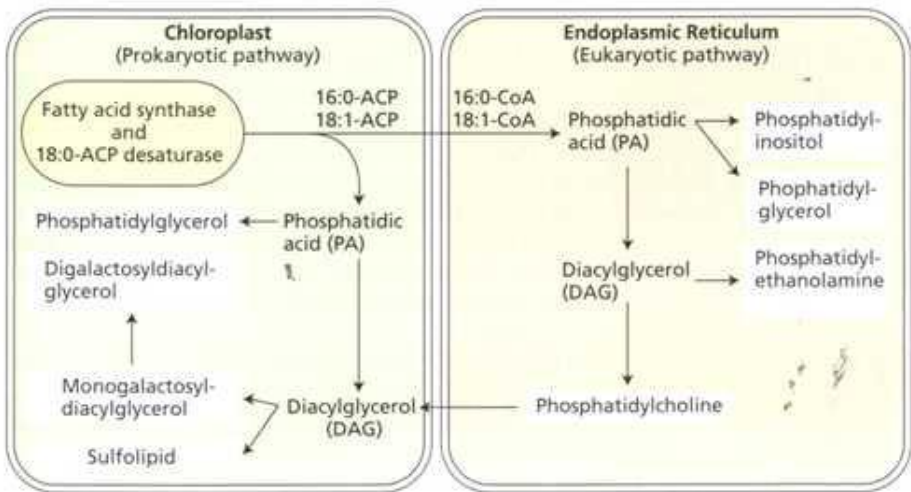
Gambar 2.3. Siklus sintesis asam lemak dalam plastida (Ohlrogge & Jaworski, 1997).

1. Pada siklus pertama sintesis asam lemak, gugus asetat dari acetyl-CoA ditransfer ke suatu cysteine spesifik dari enzim dengan bantuan suatu enzim (*3-ketoacyl-ACP synthase*) dan kemudian bergabung dengan malonyl-ACP untuk membentuk acetoacetyl-ACP.
2. Selanjutnya, gugus keton pada karbon nomor 3 dipotong dengan aktivitas dari tiga enzim untuk membentuk suatu rantai acyl baru (butyryl—ACP) yang sekarang mengandung 4 C.
3. Asam lemak dengan 4 C dan suatu molekul malonyl-ACP lain menjadi substrat baru untuk enzim kondensasi yang menghasilkan penambahan suatu unit 2 C pada rantai yang sedang tumbuh.
4. Beberapa 16:0 ACP dilepaskan dari enzim *fatty acid synthase*, tapi kebanyakan molekul yang diperpanjang hingga 18:0-ACP dikonversi secara efisien menjadi 18:0-ACP dengan suatu enzim desaturase. Jadi 16:0-ACP adalah produk utama sintesis asam lemak dalam plastida (Ohlrogge & Jaworski, 1997).

Asam lemak dapat mengalami modifikasi lebih lanjut setelah terikat dengan gliserol membentuk gliserolipid. Ikatan ganda tambahan ditempatkan pada asam lemak 16:0 dan 18:1 dengan suatu rangkaian isozyme desaturase yang merupakan integral protein membran yang terdapat dalam kloroplas dan ER (*endoplasmic reticulum*). Setiap enzim desaturase menambahkan suatu ikatan ganda pada suatu posisi spesifik pada rantai asam lemak, dan enzim bekerja secara berurutan untuk menghasilkan produk akhir asam lemak 18:3 dan 16:3 (Ohlrogge & Browse, 1995).

Asam lemak yang disintesis dalam kloroplas kemudian digunakan untuk membuat membran gliserolipid dan *oil body*. Langkah pertama sintesis gliserolipid adalah dua reaksi membentuk acyl (acylation) yang memindahkan asam lemak dari

acyl-ACP atau acyl-CoA ke glycerol-3-phosphate untuk membentuk asam phosphatidic. Suatu phosphatase akan menghasilkan diacylglycerol (DAG) dari PTA (*phosphatidic acid*) yang dapat juga dikonversi secara langsung menjadi PTI (*phosphatidylinositol*) atau *phosphatidylglycerol*; DAG dapat menghasilkan PTEA (*phosphatidylethanolamine*) atau PTC (*phosphatidylcholine*) seperti pada gambar 2.4.



Gambar 2.4 Dua jalur sintesis GCL (glycerolipid) dalam kloroplas dan retikulum endoplasma (Ohlrogge & Browse 1995).

Letak enzim dari sintesis gliserolipid menunjukkan suatu interaksi yang *komplex* dan sangat teratur antara kloroplas, dimana asam lemak disintesis, dengan sistem membran dari sel. Secara sederhana, dua jalur terlibat dalam sintesis glycerolipid yang disebut jalur prokaryot (atau kloroplas) dan jalur eukaryot (atau ER) (Ohlrogge & Browse 1995). Aktivitas pada masing-masing jalur yang dapat dinyatakan dalam bentuk reaksi sebagai berikut:

1. Dalam khloroplas, jalur prokaryot menggunakan produk 16:0ACP dan 18:1- ACP dari sintesis asam lemak khloroplas untuk sintesis PTA (*phosphatidic acid*) dan turunannya. Cara lain, asam lemak dapat dikeluarkan ke cytoplasm sebagai ester CoA.
2. Dalam sitoplasma, jalur eukaryot menggunakan suatu pembawa yang berbeda dalam ER (*endoplasmic reticulum*) untuk menyatukan asam lemak ke PTA (*phosphatidic acid*) dan turunannya.

Proses sintesis triacylglycerol secara biokimia dalam *oilseed* umumnya sama dengan yang diuraikan untuk gliserolipid. 16:0-ACP dan 18:1-ACP disintesis dalam plastida sel dan dikeluarkan sebagai thioester CoA untuk penyatuan ke DAG dalam ER. Enzim yang digunakan dalam metabolisme *oilseed* adalah *acyl-CoA:DAG acyltransferase* and *PC:DAG acyltransferase*, yang berfungsi dalam katalisis sintesis triacylglycerol. Akumulasi molekul triacylglycerol terjadi dalam struktur subsel spesifik, *oil body* atau oleosome (Dahlqvist *et al.*, 2000).

2.6 Iradiasi Sinar Gamma

Iradiasi merupakan pemancaran energi melalui suatu materi atau ruang dalam bentuk panas, partikel, atau gelombang elektromagnetik (foton) dari suatu sumber energi (BATAN, 2008). Iradiasi dapat menginduksi terjadinya mutasi karena sel yang teradiasi akan dibebani oleh tenaga kinetik yang tinggi, sehingga dapat mempengaruhi atau mengubah reaksi kimia sel tanaman yang pada akhirnya dapat menyebabkan terjadinya perubahan susunan kromosom tanaman (Poespodarsono, 1988). Selain itu, iradiasi juga menyebabkan penumpukan energi pada materi yang dilalui. Dampak yang ditimbulkan radiasi dapat berupa ionisasi, eksitasi, atau pemutusan ikatan kimia. Partikel radiasi menabrak elektron orbital dari atom atau molekul zat yang dilalui sehingga terbentuk ion positif dan elektron terion dalam

proses ionisasi. Dalam hal eksitasi, radiasi tidak menyebabkan elektron terlepas dari atom atau molekul zat tetapi hanya berpindah ke tingkat energi yang lebih tinggi. Peranan iradiasi adalah sebagai pemutusan ikatan kimia adalah bahwa radiasi yang dihasilkan oleh zat radioaktif mempunyai energi yang dapat memutuskan ikatan-ikatan kimia.

Penggunaan iradisai sinar gamma dalam aspek pemuliaan tanaman sangat besar manfaatnya dalam mengembangkan varietas atau klon mutan baru. Sebanyak 64% dari 1.585 varietas yang dilepas sejak tahun 1985 dikembangkan dengan menggunakan sinar gamma (Maluzynski *et al.* 2000). Ahloowalia *et al.*(2004) juga mengatakan bahwa mutasi induksi dengan radiasi sinar-X dan sinar gamma paling banyak penggunaannya untuk mengembangkan varietas mutan.Induksi tanaman dengan irradiasi sinar gamma merupakan salah satu cara dalam meningkatkan keragaman genetik tanaman. iradiasi menggunakan sinar gamma pada tingkat atau dosis rendah (mutasi mikro) akan mempengaruhi perubahan karakter kuantitatif tanaman dan sedikit mempengaruhi perubahan kromosom dibandingkan dengan mutasi makro yang menggunakan iradiasi sinar gamma pada dosis yang tinggi.

Peningkatan dosis iradiasi sinar gamma cenderung menghambat pertumbuhan sel-sel, hal tersebut dirangsang oleh adanya kerusakan pada sel meristem yang sangat radio sensitif. Pengaruh buruk iradiasi adalah terjadinya penghambatan pada pembelahan dan pertambahan jumlah sel. Kematian sel tanaman akibat iradiasi dapat terjadi secara langsung, yaitu kerusakan DNA serta akibat tidak langsung, yaitu adanya pengaruh toksik dari radikal bebas ion H_2O_2 dan OH^- yang dihasilkan dari radiolisis air (Soeranto 2003).

2.7 Dosis Irradiasi

Dosis serap (D) adalah energi rata-rata yang diberikan oleh radiasi pengion sebesar dE kepada bahan yang dilaluinya dengan massa dm. Satuan yang digunakan sebelumnya adalah

rad. Satu rad adalah energi rata-rata sebesar 100 erg yang diserap bahan dengan massa 1 gram. yang didefinisikan sebagai: $1 \text{ rad} = 100 \text{ erg/gr}$ 1 gray (Gy) = 100 rad Satuan dosis serap dalam SI adalah Joule/kg atau sama dengan gray (Gy). Satu gray adalah dosis radiasi yang diserap dalam satu joule per kilogram.

$$1 \text{ gray (Gy)} = 1 \text{ joule/kg}$$

Besaran dosis serap ini berlaku untuk semua jenis radiasi dan semua jenis bahan yang dikenainya, namun bila menyangkut akibat paparan terhadap makhluk hidup, maka informasi yang diperoleh tidak cukup. Jadi diperlukan besaran lain yang sekaligus memperhitungkan efek radasi untuk jenis radiasi yang berbeda. Laju dosis serap adalah dosis serap per satuan waktu, dan diberi simbol . Satuan laju dosis serap dalam SI adalah joule/kg. jam atau gray/jam(Gy/jam) dan dalam satuan lama adalah rad/jam.

Iradiasi sinar gamma dapat menyebabkan perubahan genetik di dalam sel somatik (mutasi somatik), dapat diturunkan dan dapat menyebabkan terjadinya perubahan fenotip. Perubahan tersebut dapat terjadi secara lokal pada tingkat sel atau kelompok sel sehingga individu dapat menjadi kimera (Soeranto,2003). Iradiasi dapat menginduksi perubahan struktur kromosom yaitu terjadi pematihan kromosom. Pada dosis yang rendah dapat menyebabkan terjadinya delesi, semakin tinggi dosis akan menimbulkan duplikasi, inversi dan translokasi.

Mutagen dapat digunakan dalam induksi mutasi. Mutagen tersebut dapat berupa mutagen kimia dan fisika. Mutagen fisik dapat berupa sinar gamma, sinar X dan ultraviolet (UV) (Debener, 2009).Sinar gamma digunakan upaya untuk mempercepat perolehan varietas-varietas unggul baru contohnya pada tanaman krisan (Datta dan Banerji, 1993). Keefektifan teknik iradiasi sinar gamma untuk meningkatkan keragaman genetik krisan telah dibuktikan oleh beberapa orang peneliti. Induksi sinar gamma dengan dosis 15, 20 dan 25 Gy menginduksi mutan somatik krisan. Mutan tersebut memiliki perbedaan sitogenetik dan morfologi dibandingkan dengan yang

asli (Banerji dan Datta, 1992). Selain untuk tanaman krisan, induksi sinar gamma dalam memperbaiki karakter tanaman yang digunakan pada jenis tanaman hias lainnya seperti Anggrek, Bougenvillea, Hibiscus, Acalypha dan Dahlia. Induksi mutasi dengan radiasi juga terbukti meningkatkan ke- ragaman genetik alpukat (Arriaga and Torrese, 1995).

Sinar gamma juga dapat menekan pertumbuhan vegetatif, merangsang abnormalitas pembentukan bunga dan menginduksi perubahan bentuk dan warna bunga (Datta dan Banerji, 1993). Mutasi induksi dengan sinar gamma pada entres mawar dapat menghasilkan warna bunga yang berbeda, hal ini kemungkinan disebabkan kandungan flavonoid, karotenoid atau betalain. Dosis radiasi yang diberikan untuk mendapatkan mutan tergantung pada jenis tanaman, fase tumbuh, ukuran, kekerasan, dan bahan yang akan dimutasi. Maka penelitian penggunaan radiasi sinar gamma pada berbagai konsentrasi diharapkan mendapatkan jenis varietas unggul sedap malam yang mempunyai karakter bunga yang baik dari sebelumnya.

2.8 GC-MS

Kromatografi gas adalah alat untuk mengetahui kandungan kandungan yang terdapat dalam suatu senyawa. Instrumen ini akan memisahkan semua komponen dalam sebuah sampel dan merepresentasikannya dalam bentuk spektrum.

Cara kerja alat ini adalah, pertama kali sampel diinjeksikan ke tempat injeksi pada kromatografi gas. Setelah diinjeksikan sampel akan diuapkan, kemudian dipisahkan dan dianalisis komponen-komponennya. Setiap komponen akan mempunyai spektrum yang khas yang akan direkam pada sebuah tabel. Waktu jeda antara saat injeksi dan elusi dinamakan waktu retensi. Waktu retensi dapat membantu untuk mengetahui perbedaan beberapa senyawa. Ukuran puncak sebanding dengan kuantitas dari komponen tersebut (Lilley, 2001).

Analisis dengan menggunakan kromatografi gas adalah untuk memisahkan komponen – komponen dalam sampel. Sebuah

campuran senyawa kimia dalam sampel dapat dipisahkan di kolom kromatografi gas. Beberapa sifat kimia dan sifat fisika dari suatu molekul menyebabkan komponen-komponennya mempunyai kecepatan yang berbeda pada saat melewati kolom. Jika komponen tersebut mempunyai berat kecil, maka komponen tersebut akan melewati kolom lebih mudah dan cepat. Sehingga akan menghasilkan waktu retensi yang pendek. Begitu juga sebaliknya jika komponen tersebut memiliki berat yang besar maka komponen tersebut akan melewati kolom lebih lama. Sehingga akan menghasilkan waktu retensi yang lebih panjang. Interaksi antara komponen di dalam sampel dengan kolom akan mempengaruhi juga terhadap waktu retensi. Jika Komponen tersebut berinteraksi dengan kuat dengan kolom maka waktu retensinya akan lebih panjang (Sing; *et al*, 2005).

Instrumen kromatografi gas– mass spectrometry adalah sebuah metoda yang mengkombinasikan dari kromatografi gas dan mass spectrometry untuk mengidentifikasi berbagai macam senyawa dalam sebuah pengukuran suatu sampel. GC-MS dirancang dengan menggunakan dua bagian utama, yaitu kromatografi gas dan mass spec. Kromatografi gas menggunakan sebuah kolom kapiler sebagai fasa diam. Perbedaan sifat kimia antara molekul dalam sebuah pencampuran akan memisahkan molekul pada saat sampel tersebut masuk ke dalam kolom. Molekul – molekul akan memiliki waktu retensi yang berbeda-beda untuk keluar dari kromatografi gas, dan hal ini memungkinkan untuk mass spectrometry mendeteksi ion-ion molekul secara terpisah. Mass spectrometry akan mendeteksi fragmen ini dan dihasilkan massa molekul relatifnya. Peralatan kromatografi gas merupakan salah satu instrumen analitik. Kromatografi gas sangat efektif untuk memisahkan senyawa menjadi komponennya yang bervariasi. Akan tetapi kromatografi gas tidak dapat mengidentifikasi senyawa yang spesifik. Sebaliknya Spektroskopi massa dapat mengetahui senyawa yang spesifik namun tidak dapat menghasilkan analisis kualitatif yang baik. Ketika sebuah analisis menggunakan kromatografi gas untuk memisahkan komponennya

sebelum dianalisis dengan spektroskopi massa, maka akan terbentuk hubungan yang komplementer (Harding,2012).

“Halaman Ini Sengaja Dikosongkan”

BAB III METODOLOGI

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Pelaksanaan penelitian Tugas Akhir ini dilakukan mulai bulan September hingga Januari 2016 di Laboratorium Kultur Jaringan, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya.

3.2 Metode yang Digunakan

3.2.1 Sterilisasi Alat dan Media Kultur

Tahapan sterilisasi yang dilakukan merujuk pada Isnansetyo dan Kurniastuty (1995), sebagai berikut:

- a) Semua peralatan gelas dicuci dengan menggunakan sabun, kemudian dibilas dengan air mengalir dan dikering anginkan. Selanjutnya alat gelas di autoklaf dengan suhu 121 °C dan tekanan 1 atm selama 30 menit.
- b) Selang plastik aerator disterilkan dengan merendamnya dalam larutan kaporit selama 10-15 menit. Pencucian dilakukan dengan air mengalir dan dikering anginkan. Selanjutnya selang plastik aerator dibungkus dengan plastik tahan panas dan di autoklaf dengan suhu 121 °C dan tekanan 1 atm selama 30 menit.
- c) Air laut yang digunakan untuk pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. dalam penelitian berasal dari penyedia komersial dengan salinitas sebesar 25 ppt dan pada pH optimum yaitu 7,2 (Amini, 2007). Selanjutnya air laut tersebut di autoklaf dengan suhu 121 °C dan tekanan 1 atm selama 30 menit.

3.2.2 Persiapan Pupuk untuk Media Kultur *Nannochloropsis* sp.

Pupuk berfungsi sebagai sumber nutrisi pertumbuhan sel *Nannochloropsis* sp. dalam medium kultur. Pupuk yang

digunakan dalam penelitian ini adalah Pupuk Walne yang diperoleh dari Laboratorium Pakan Alami Balai Budidaya Air Payau (BBAP) Situbondo dengan komposisi sesuai yang ditampilkan pada tabel 3.1 Bahan-bahan pupuk Walnetersebut dilarutkan dalam 1L aquades.

3.2.3 Penentuan Umur Starter

Penentuan umur starter *Nannochloropsis* sp. yang akan di iradiasi didapatkan dari kurva pertumbuhan mikroalga. Kultivasi mikroalga untuk pengamatan kurva pertumbuhan dilakukan dengan menggunakan bibit *Nannochloropsis* sp. yang diperoleh dari BBAP Situbondo dengan kepadatan sel 17.000.000 sel/ml diambil sebanyak 60 ml dan dimasukkan ke dalam botol kultur yang berisi 240 ml air laut dan 0,3 ml pupuk Walne. Kepadatan sel *Nannochloropsis* sp. diukur setiap 24 jam hingga mencapai fase kematian menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 680 nm (Agustini, 2012).

3.2.4 Pembuatan Starter

Kurva pertumbuhan yang didapatkan dari kultivasi starter dapat menunjukkan fase-fase kehidupan dari mikroalga. Setelah waktu pada fase-fase tersebut diketahui maka dibuat starter mikroalga *Nannochloropsis* sp. dengan kultivasi seperti pada metode sebelumnya, yaitu *Nannochloropsis* sp. diambil sebanyak 60 ml dan dimasukkan ke dalam botol kultur yang berisi 240 ml air laut dan 1 ml pupuk Walne. Setelah sampai pada fase setengah eksponensial, maka mikroalga di ambil dan disiapkan untuk diradiasi (Cheng *et al.*, 2014).

3.2.5 Iradiasi Mikroalga

Kultur mikroalga *Nannochloropsis* sp. yang telah dalam fase setengah eksponensial diambil sebanyak 60 ml, lalu dimasukkan ke dalam botol kultur (Cheng *et al.*, 2014). Mikroalga diiradiasi dengan sinar gamma ^{60}Co dengan dosis 2, 4, 6, dan 10 Gy menggunakan irradiator Gamma Chamber 4000 A

di Badan Tenaga Nuklir Nasional (BATAN), Jakarta. Mikroalga yang diradiasi adalah kultur mikroalga murni saja tanpa campuran medium.

3.2.6 Penentuan Waktu Pemanenan

Penentuan waktu pemanenan ditentukan dengan pembuatan kurva pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. pada masing-masing kultur mikroalga yang telah diiradiasi sinar gamma ^{60}Co . Hal ini dilakukan untuk mengetahui fase pertumbuhan eksponensial akhir sebagai dasar dalam menentukan waktu pemanenan *Nannochloropsis* sp. (BBAP, 2013). Metode yang dilakukan sama dengan metode penentuan umur starter pada sub bab 3.2.4.

3.2.7 Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan secara deskriptif kuantitatif. Penelitian secara deskriptif dilakukan berdasarkan hasil analisis dengan menggunakan *Gas Chromatography* (GC), dan secara kuantitatif berdasarkan analisis dengan menggunakan uji Anova (*Analysis of Variance*). Penelitian terdiri dari 5 perlakuan, dengan 3 kali pengulangan. Mikroalga *Nannochloropsis* sp. diradiasi dengan dosis 2, 4, 6, dan 10 Gy, dosis yang digunakan tergantung pada lamanya waktu pemaparan. Setelah diradiasi kemudian dilakukan analisis biomassa, *lipid content*, dan produktivitas lipid. Berikut adalah tabel rancangan penelitian ini :

Tabel 3.1 Pengumpulan Data

Perlakuan		<i>Nannochloropsis</i> sp.		
		1	2	3
Dosis Radiasi (D)	0 Gy	N1D0	N2D0	N3D0
	2 Gy	N1D2	N2D2	N3D2
	4 Gy	N1D4	N2D4	N3D4
	6 Gy	N1D6	N2D6	N3D6
	10 Gy	N1D10	N2D10	N3D10

3.2.8 Pemanenan dan Analisis Biomassa *Nannochloropsis* sp.

Pemanenan *Nannochloropsis* sp. pada setiap perlakuan dilakukan pada fase eksponensial akhir seperti yang digunakan pada subbab 3.2.7. Menurut Duong *et al.* (2012) pada fase eksponensial akhir, yaitu ketika mikroalga telah mencapai masa pertumbuhan tertinggi kultur mikroalga memiliki kemampuan akumulasi lipid tertinggi. Pengukuran produksi biomassa dilakukan dengan memanen 250 ml mikroalga dengan cara disaring dengan kertas saring Whattman No. 40 yang telah ditimbang berat awalnya. Setelah proses penyaringan selesai, kertas saring dan hasil panen kemudian dikeringkan dalam oven selama 24 jam pada suhu 60°C, kemudian ditimbang. Biomassa dari mikroalga yang dipanen tersebut didapat dari selisih bobot kering kertas saring dan mikroalga dengan bobot kering kertas saring.

3.2.9 Pengukuran Kandungan Lipid Content

Pengukuran kadar lipid total pada penelitian ini menggunakan metode Bligh & Dyer(1959) yang telah dimodifikasi. Diambil sebanyak 10 mL sel kultur dan disentrifugasi 6000 rpm selama 15 menit. Untuk ekstraksi minyak ditambahkan metanol sebanyak 3 mL, selanjutnya disonikasi 4 x 1 menit. Setelah itu ditambahkan 6 mL kloroform dan dilakukan *Shaker* selama 1 jam. Kemudian ditambahkan aquades sebanyak 10 mL dan di *shaker* kembali selama 15 menit. Hasil *shaker* tersebut didiamkan sebentar agar terpisah fase air dan minyaknya. Minyak berada di bagian bawah. Minyak mikroalga yang masih bercampur dengan kloroform diambil menggunakan pipet pasteur ke dalam tabung reaksi yang telah ditimbang beratnya. Tabung reaksi tersebut disimpan di tempat terbuka agar kloroform menguap dan hanya minyak yang tertinggal. Perhitungan % berat total lipid menggunakan rumus berikut :

$$\% \text{ lipid} = \frac{(A \times B)}{C}$$

Keterangan : A :Berat minyak (gram)

B :Kadar larutan (ml)

C : Berat biomassa (gram)

(Lestari & Amrullah, 2013).

3.3 Analisis Data

Data hasil pengamatan biomassa, *lipid content*(%), dan produktivitas lipid dianalisis dengan analisis statistik dengan uji Anova (*Analysis of Variance*) satu faktor pada taraf kepercayaan 95%. Dilanjutkan dengan uji Turkey (Beda Nyata Jujur/*Honestly Significant Difference Test*) pada taraf 5%, dengan menggunakan program Minitab 16 *Statistical Software*. Analisis komposisi asam lemak dilakukan dengan menggunakan *Gas Chromatography* (GC) sesuai metode Song *et al.*,(2013). Analisis GC dilakukan di LPPM Institut Teknologi Sepuluh Nopember.

3.3.1 Analisis Menggunakan GC

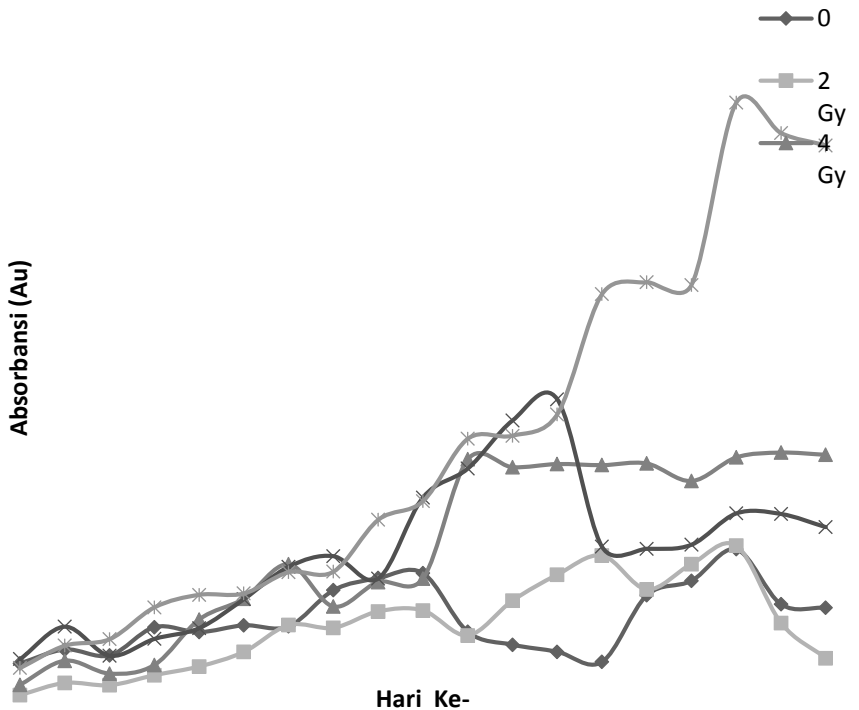
Analisis data menggunakan *Gas Chromatography* menggunakan metode yang tercantum pada alat yaitu sebelum sample mikroalga dirunning dalam kolom untuk diketahui kandungan asam lemaknya terlebih dahulu sampel harus diekstraksi. Ekstraksi sample mikroalga ini menggunakan metode bligh and dryer yaitu sample disentrifugasi dengan kecepatan 600 Rpm lalu setelah didapatkan natan dan supernatan maka natan dipisahkan setelah itu natan dipindahkan ke tabung reaksi. Pada tabung reaksi dimasukkan NAOH 2% dan juga metanol lalu dipanaskan pada suhu 90⁰ C selama 5 menit. Setelah itu ditambahkan BF₃ dalam metanol dan dipanaskan lagi pada suhu 90⁰ C selama 30 menit lalu ditambahkan n-heksan. Selanjutnya sample dikeringkan sehingga didapatkan faty acid metil ester dari

mikroalga *Nannochloropsis* sp. yang selanjutnya akan digunakan untuk analisis kandungan asam lemaknya. Hasil kandungan asam lemak yang dianalisis didapatkan dengan cara mencocokkan hasil dari suatu pembacaan sampel oleh alat melalui suatu metode pencocokan dengan suatu standart yang dimiliki oleh alat yang pada awal perlakuan telah dilakukan suatu kalibrasi agar hasil yang didapatkan akurat. Tingkat ketelitian alat dan metode pencocokan dapat diamati (lampiran). Dan akibat dari analisis ini maka ada suatu peristiwa elusidasi struktur yang menyebabkan molekul asam lemak berubah strukturnya menjadi memendek akibat terkena suatu energi yang sangat besar yang dibebankan oleh alat. Pembacaan kurva pada hasil analisis didasarkan pada pembacaan kurva dibawah area kurva sehingga kelimpahan asam lemaknya dapat dituliskan dalam bentuk prosentase yang selanjutnya dapat dikenali kespesifikan jenis asam lemaknya.

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pengaruh Iradiasi Sinar Gamma ^{60}Co Terhadap Profil Pertumbuhan *Nannochloropsis* sp.

Kurva pertumbuhan mikroalga *Nannochloropsis* sp. dapat diamati pada Gambar 4.1. Pengamatan profil pertumbuhan mikroalga *Nannochloropsis* sp digunakan sebagai acuan untuk menentukan fase pertumbuhan yang terjadi pada mikroalga



tersebut.

Gambar 4.1 Profil Pertumbuhan *Nannochloropsis* sp.

Pada Gambar 4.1 tampak bahwa fase tumbuh yang dialami oleh mikroalga *Nannochloropsis* sp. yang tidak dilakukan perlakuan iradiasi terdiri dari fase lag, fase log atau fase eksponensial, dan fase kematian. Fase lag berlangsung selama satu hari yaitu mulai hari ke-0 hingga hari ke-1. Fase lag merupakan fase adaptasi dari kultur mikroalga *Nannochloropsis* sp. Selanjutnya fase yang terjadi adalah fase eksponensial yang berlangsung pada hari ke-1 sampai hari ke-17. Setelah fase eksponensial kondisi mikroalga mengalami penurunan pertumbuhan yang ditandai dengan menurunnya nilai absorbansi. Fase ini disebut fase kematian yang dimulai setelah hari ke-17. Kurva tumbuh tersebut hampir memiliki kesamaan dengan mikroalga yang diberi perlakuan iradiasi menggunakan dosis 2 Gy.

Pada Gambar 4.1 terlihat adanya perbedaan pada mikroalga yang tidak diberi perlakuan iradiasi dengan kelompok mikroalga yang diberi perlakuan iradiasi menggunakan dosis 4,6 dan 10 Gy. Kurva pertumbuhan perlakuan kontrol pada Gambar 4.1 hampir memiliki pola yang sama dengan kurva pertumbuhan pada mikroalga *Nannochloropsis* sp. yang diberi perlakuan iradiasi menggunakan 2Gy hal ini diduga karena iradiasi menggunakan 2Gy belum memberikan pengaruh yang signifikan terhadap pertumbuhan mikroalga *Nannochloropsis* sp. sehingga belum mempengaruhi pola pertumbuhan dari mikroalga tersebut. Menurut penelitian Bermawie (2015) iradiasi sinar Gamma menggunakan dosis dibawah 5 Gy tidak akan mempengaruhi pola pertumbuhan suatu sel tanaman dan hasil yang didapatkan akan cenderung tidak memiliki beda dengan kontrol atau kelompok tanaman yang tidak mengalami perlakuan iradiasi.

Pada kurva pertumbuhan mikroalga yang diberi perlakuan iradiasi dengan dosis 10 Gy terlihat bahwa fase lag yang dialami mikroalga tersebut mengalami pemanjangan jika dibandingkan dengan mikroalga *Nannochloropsis* sp. yang tidak diberi perlakuan iradiasi. Fase lag dalam kurva pertumbuhan

Nannochloropsis sp. yang diberi perlakuan iradiasi dengan dosis 10 Gy terjadi mulai hari ke-0 hingga hari ke-3 sedangkan pada perlakuan yang lainnya hanya terjadi dari hari ke-0 hingga hari ke-1. Hal ini dimungkinkan terjadi karena mikroalga yang mengalami perlakuan iradiasi dosis 10 Gy memerlukan waktu yang lebih lama untuk beradaptasi akibat adanya pengaruh radikal bebas sebagai dampak dari perlakuan iradiasi (Muller *et al*, 2004). Selain fase lag yang selain fase lag yang mengalami perbedaan, Fase eksponensial dari tiap-tiap perlakuan juga berbeda yaitu menjadi semakin panjang yang dimulai pada hari ke-3 hingga hari ke-17, namun nilai absorbansinya cenderung mengalami kenaikan yang tajam jika dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Hal ini dimungkinkan terjadi karena sel melakukan proses perlindungan terhadap kerusakan oksidatif pada DNA dan protein. Perlindungan metabolisme inilah yang diprediksi dapat membantu dalam menjaga integritas genome sel dan memungkinkan sel tersebut untuk memelihara pembaruan sel nya sendiri (Sattler *et al*, 2009).

4.2 Pengaruh Iradiasi Sinar Gamma ^{60}Co Terhadap Biomassa dan Total Lipid *Nannochloropsis* sp.

Pengukuran biomassa dilakukan sebagai indikator produktivitas suatu mikroalga *Nannochloropsis* sp. pengaruh iradiasi sinar gamma pada mikroalga *Nannochloropsis* sp. terhadap biomassa dan total lipid dapat dilihat pada Tabel 4.1

Tabel 4.1 Hasil Analisis Biomassa dan Total Lipid mikroalga *Nannochloropsis* sp.

Analisis Biomassa dan Total Lipid mikroalga <i>Nannochloropsis</i> sp.		
Dosis	biomassa (gram)	total lipid (%)
0 Gy	0,01 ^a	32,41 ^a
2 Gy	0,012 ^{ab}	40,64 ^a
4 Gy	0,019 ^b	34,23 ^a
6 Gy	0,031 ^c	46,71 ^{ab}
10 Gy	0,033 ^c	62,65 ^b

Keterangan : Angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada tabel menunjukkan hasil berbeda tidak nyata berdasarkan uji ANOVA dan uji lanjut Tukey pada taraf signifikansi 95%.

Pada Tabel 4.1 dapat diketahui bahwa perlakuan iradiasi menggunakan dosis 6 dan 10 Gy ternyata menunjukkan adanya pengaruh yang signifikan terhadap rerata biomassa *Nannochloropsis* sp. Jika dibandingkan dengan kelompok mikroalga yang tidak diberi perlakuan iradiasi dan yang diiradiasi menggunakan dosis 2 dan 4 Gy. Hal tersebut dibuktikan dengan nilai $P = 0,000$ ($P < 0,05$). Hal ini diduga terjadi karena adanya peningkatan aktivitas enzim pada proses fotosintesis yang menyebabkan pertumbuhan sel juga meningkat. Iradiasi sinar Gamma pada dosis rendah dapat meningkatkan aktivitas enzim, proliferasi sel, dan pertumbuhan sel (Chakravarty dan Sen, 2001).

Hasil analisis biomassa pada Tabel 4.1 menunjukkan bahwa perlakuan iradiasi dengan dosis 6 Gy dan 10 Gy merupakan perlakuan yang menghasilkan biomassa tertinggi. Hasil tersebut sangat berbeda jika dibandingkan dengan biomassa

Hal ini dihubungkan dengan penelitian yang dilakukan oleh Agarwal *et al*, 2008 yang membuktikan bahwa adanya peningkatan profil pertumbuhan diindikasikan dengan adanya kenaikan biomassa disebabkan karena adanya mekanisme adaptasi terhadap dosis iradiasi. Mekanisme adaptasi tersebut dimungkinkan terjadi akibat adanya peningkatan peningkatan aktivitas enzim RuBisCo sehingga laju fotosintesis dan pertumbuhannya meningkat (Yoon *et al.*, 2013).

Selain perbedaan hasil analisis biomassa, Tabel 4.1 juga menunjukkan adanya perbedaan antara hasil analisis total lipid dari mikroalga *Nannochloropsis* sp. yang tidak diberi perlakuan iradiasi dan yang diberi perlakuan iradiasi dengan dosis 10 Gy. Hasil uji Anova (*Analysis of Variance*) untuk perlakuan iradiasi dengan dosis 10 Gy memberikan pengaruh yang nyata terhadap rerata total lipid pada *Nannochloropsis* sp. yang tidak diberi perlakuan iradiasi dengan $P = 0,011$ ($P < 0,05$). Pada Tabel 4.2 dapat diamati bahwa kandungan total lipid yang tertinggi adalah pada mikroalga *Nannochloropsis* sp. yang diberi perlakuan iradiasi 10 Gy yaitu sebesar 62,65% dari total biomassa kering nya. Sedangkan hasil analisis total lipid dari mikroalga *Nannochloropsis* sp. yang tidak diberi perlakuan iradiasi yaitu sebesar 32,41% dari berat keringnya. Hal ini menunjukkan bahwa iradiasi berpengaruh dalam proses sintesis lipid pada mikroalga *Nannochloropsis* sp. dan dosis yang paling mempengaruhi yaitu dosis 10 Gy.

Semua kelompok perlakuan iradiasi menunjukkan respon peningkatan pada analisa total lipid jika dibandingkan dengan perlakuan non iradiasi atau perlakuan kontrol. Peningkatan tersebut diduga berhubungan dengan perubahan kandungan biomassa pada masing-masing mikroalga. Menurut Yubin *et al*, (2012) semakin meningkatnya biomassa mikroalga *Nannochloropsis* sp. akan berpengaruh pula pada peningkatan total lipid. Peningkatan biomassa akan berpengaruh pada meningkatnya enzim pengaktivasi siklus calvin sehingga akan

menyebabkan peningkatan pada reaksi karboksilasi 3-asam phosphoglisarat yang menyebabkan meningkatnya proses sintesis lipid (Agarwal *et al*, 2008).

4.3 Pengaruh Iradiasi Sinar Gamma ^{60}Co Terhadap Profil Asam Lemak *Nannochloropsis* sp.

Analisis profil asam lemak pada mikroalga *Nannochloropsis* sp. dilakukan dengan menggunakan GC-MS. Hasil dari analisa asam lemak menggunakan metode GC-MS pada penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 4.2

Tabel 4.2 Analisis Profil Asam Lemak Mikroalga *Nannochloropsis* sp.

komposisi asam lemak	total (%)	
	kontrol	10 Gy
Asam Arakhidat (C20:0)	-	2,47%
Asam Kaprat (C10:0)	-	1,71%
Asam Linolenat (C18:3)	-	4,56%
Asam Miristat (C14:0)	1,15%	2,14%
Asam Palmitat (C16:0)	30,80%	29,65%
Asam Palmitoleat (C16:1)	0,95%	-
Asam Oleat (C18:1)	44,73%	21,28%
Asam Stearat (C18:0)	13,82%	9,54%
Asam 7,10 Heksadekadienoat (C16:2)	-	4,56%
Asam 9,12 Oktadehadiensat	5,88%	22,33%

Hasil yang didapatkan untuk analisis profil asam lemak pada mikroalga *Nannochloropsis* sp. menunjukkan hasil adanya perbedaan kandungan pada kedua mikroalga *Nannochloropsis* sp. yang diuji.. pada mikroalga *Nannochloropsis* sp. yang tidak diberi perlakuan radiasi kandungan asam lemak yang teridentifikasi yaitu asam miristat (C-14:0), asam palmitoleat (C-16:1), asam

palmitat (C-16:0), asam 9,12 oktadehadiensat, asam oleat (C-18:1) dan asam stearate (C-18:0) (Sibi *et al*, 2015). Hasil tersebut menunjukkan bahwa mikroalga *Nannochloropsis* sp. mengandung golongan asam lemak jenuh yaitu asam miristat, asam palmitat dan asam stearate (Sibi *et al*, 2015). Dan juga mengandung golongan asam lemak tak jenuh yaitu asam palmitoleat dan asam oleat (Sibi *et al*, 2015). Sedangkan hasil pada profil asam lemak mikroalga *Nannochloropsis* sp. yang tidak diberi perlakuan iradiasi menunjukkan adanya kandungan asam oleat sebesar 44,7%, asam palmitat sebesar 30,8%, asam stearat sebesar 13,8%, asam 9,2 oktadehadiensat sebesar 5,8% dan asam miristat sebesar 1,1%. Kandungan tersebut berbeda dengan hasil yang didapatkan pada mikroalga *Nannochloropsis* sp. yang diberi perlakuan iradiasi dengan dosis 10 Gy. Perbedaan yang terlihat adalah adanya kandungan asam lemak baru yaitu asam arakhidat, asam kaprat, asam linoleat dan asam 7,10 Heksadekadienoat yang awalnya tidak terdapat pada analisis profil asam lemak mikroalga *Nannochloropsis* sp. yang tidak diiradiasi namun terdapat dalam analisis profil asam lemak mikroalga *Nannochloropsis* sp. yang diiradiasi dengan dosis 10 Gy.

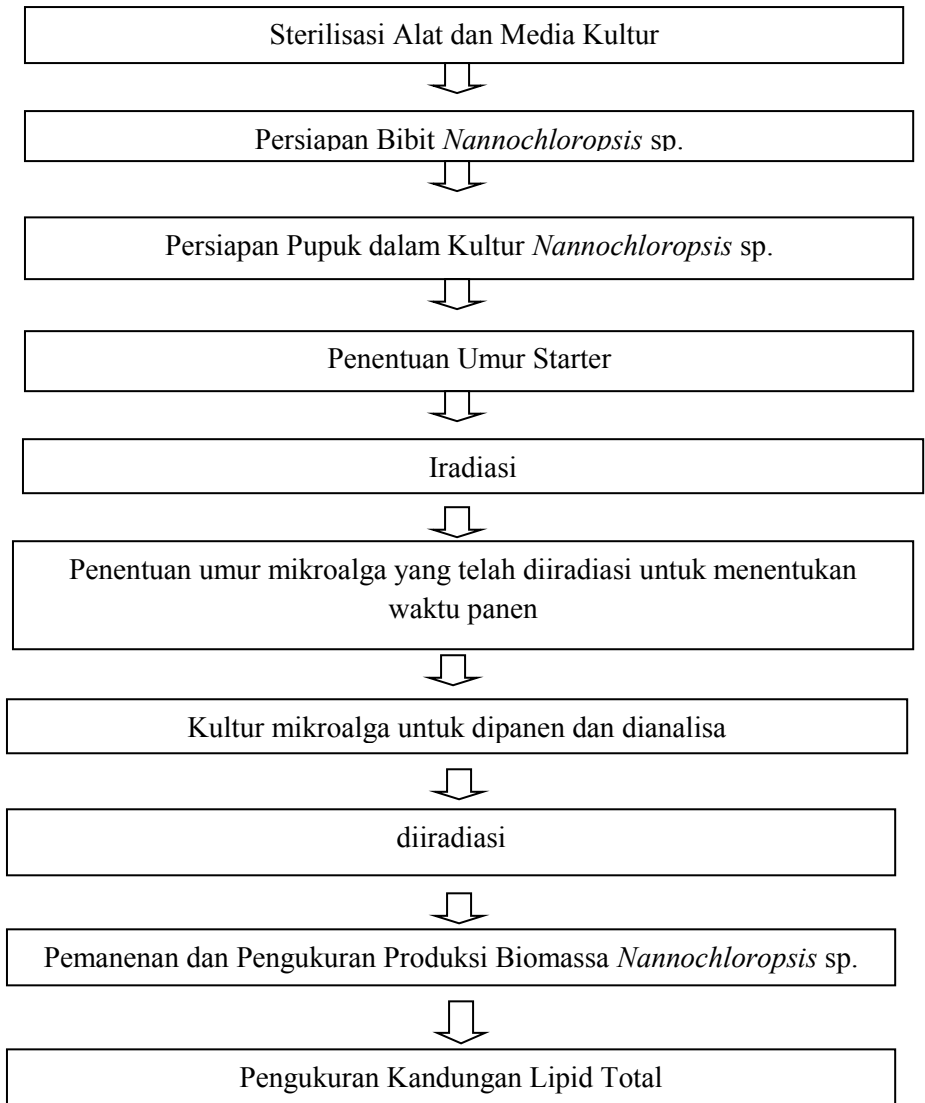
Analisis profil asam lemak pada kedua mikroalga *Nannochloropsis* sp. menunjukkan adanya perbedaan yaitu penurunan kandungan asam oleat sebesar 22,9%, penurunan juga terjadi pada kandungan asam palmitat sebesar 1,2% dan asam stearate sebesar 4%. Namun berbeda dengan hasil pada asam miristat yang mengalami peningkatan sebesar 1,043%. Pada gambar 4.6 tampak bahwa terdapat kandungan asam lemak yang berbeda dengan kandungan asam lemak yang ada pada mikroalga kontrol diantaranya adalah asam kaprat dan asam arahidrat. Kedua asam lemak ini awalnya tidak terkandung dalam mikroalga *Nannochloropsis* sp. yang tidak diberi perlakuan iradiasi namun muncul pada pengamatan profil asam lemak *Nannochloropsis* sp. yang diberi perlakuan iradiasi dengan dosis 10 Gy. Hal ini sesuai dengan penelitian Simionato et al, (2013) asam lemak yang terkandung dalam *Nannochloropsis* sp. terdiri dari C14:0, C16:0,

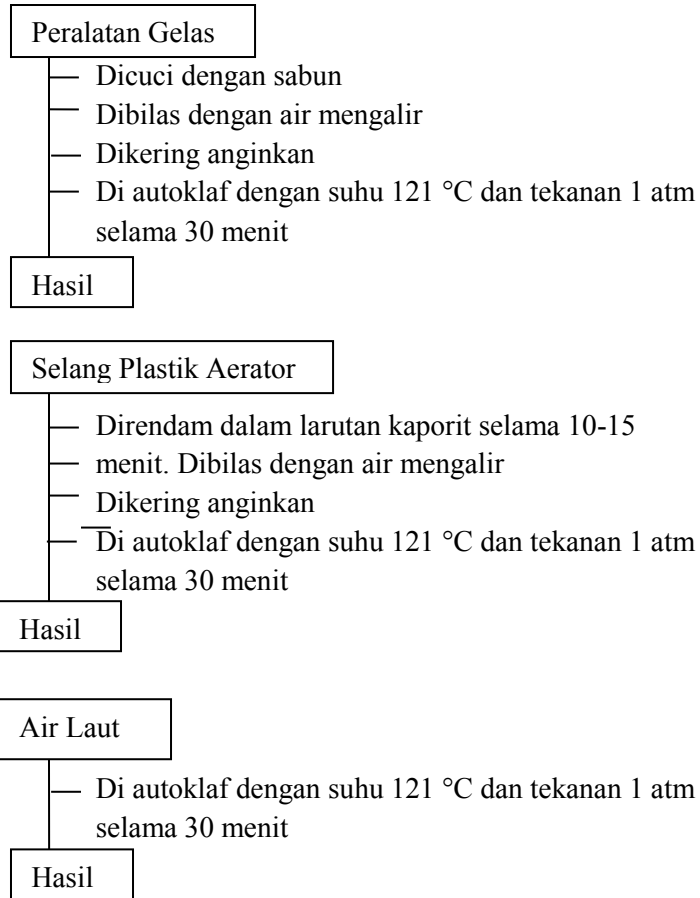
C16:1, C18:1, C20:4 and C20:5. Adanya perbedaan kandungan asam lemak pada mikroalga *Nannochloropsis* sp. tanpa perlakuan iradiasi dan yang diberi perlakuan radiasi dimungkinkan terjadi karena adanya pengaruh perubahan reaksi enzimatik yang terjadi dalam metabolisme mikroalga *Nannochloropsis* sp. itu sendiri (Chaturvedi, *et al*, 2004). Radiasi sinar Gamma dapat menyebabkan stres oksidatif pada sel mempengaruhi aktivitas enzim di dalam sel (Agarwal *et al.*, 2008). Enzim yang relevan dengan proses pemanjangan asam lemak diinduksi sehingga terjadi pemanjangan asam lemak yang berdampak pada penurunan persentase C16 dan C18 akibat adanya proses pemanjangan ini sel (Agarwal *et al.*, 2008).

LAMPIRAN

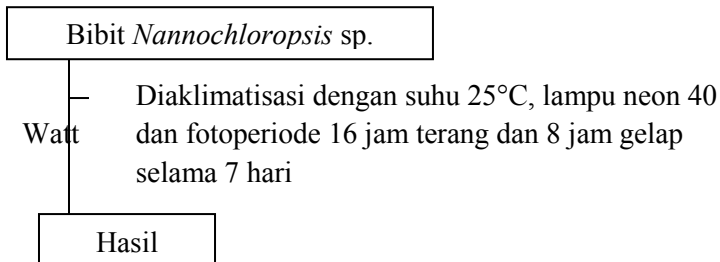
Lampiran 1. Skema Kerja

Metode yang digunakan

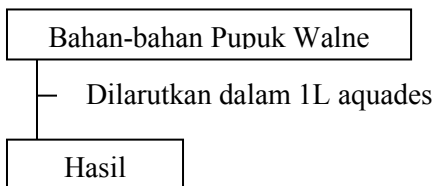


Sterilisasi Alat dan Media Kultur

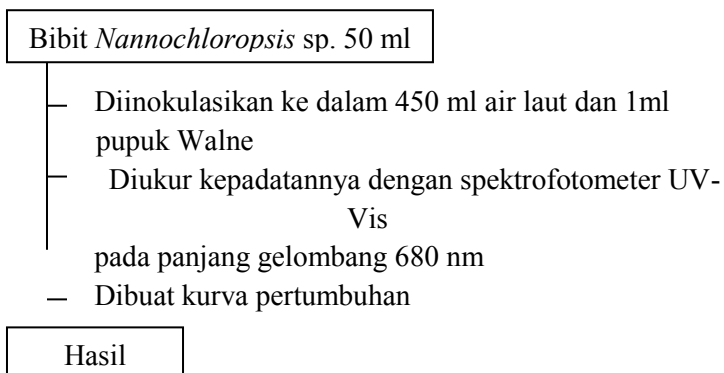
Persiapan Bibit *Nannochloropsis* sp.



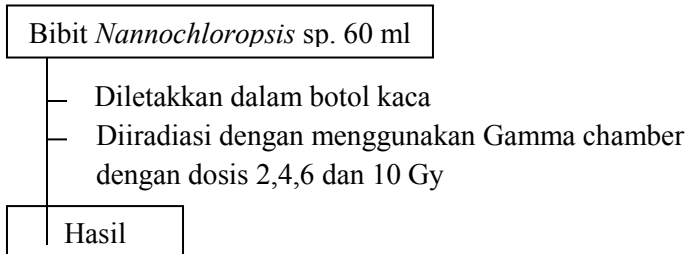
Persiapan Pupuk dalam Kultur *Nannochloropsis* sp.



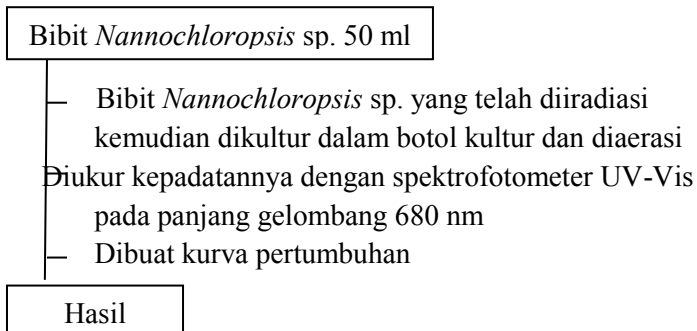
Penentuan Umur Starter



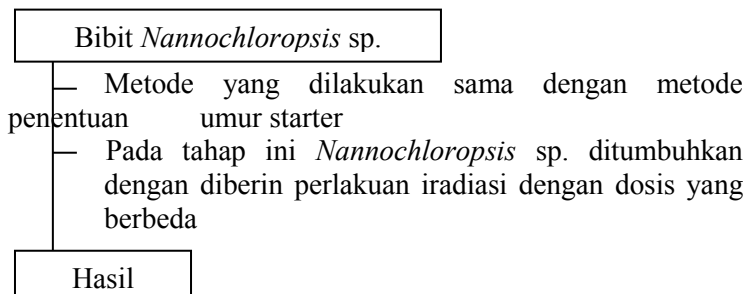
Iradiasi



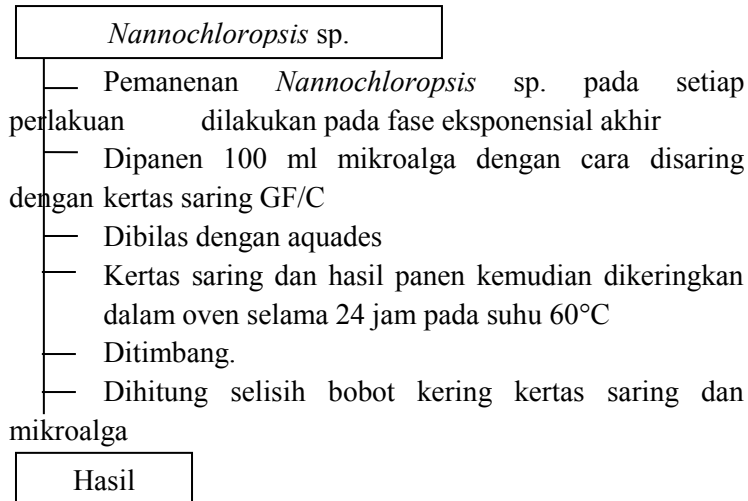
Penentuan Umur Kultur Mikroalga Setelah Diiradiasi



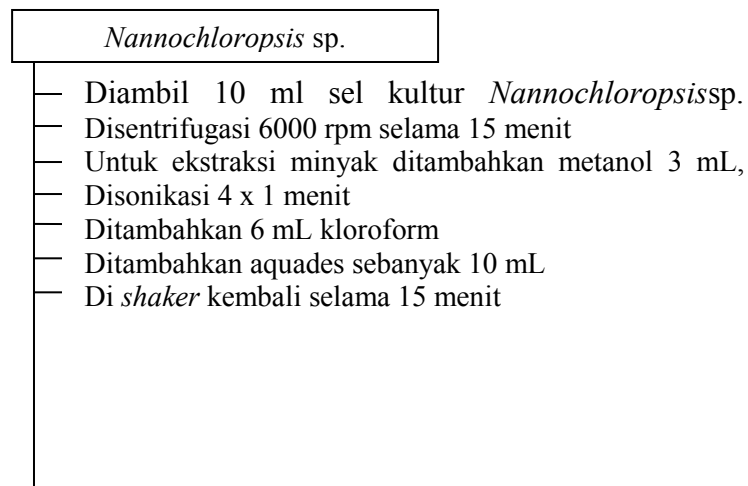
Penentuan Waktu Pemanenan



Pemanenan dan Pengukuran Produksi Biomassa *Nannochloropsis* sp.



Pengukuran Kandungan Lipid Total



- Hasil *shaker* tersebut didiamkan sebentar agar terpisah fase air dan minyaknya.
- Minyak mikroalga yang masih bercampur dengan kloroform diambil menggunakan pipet pasteur ke dalam tabung reaksi yang telah ditimbang beratnya
- Tabung reaksi tersebut disimpan di tempat terbuka.
- Dihitung % berat total lipid menggunakan rumus berikut :

$$\% \text{ lipid} = \frac{(A \times B)}{C}$$

Hasil

Lampiran 2. Hasil Uji Anova

Hasil Uji Anova

Hasil uji Anova pengaruh iradiasi sinar Gamma ^{60}Co terhadap biomassa *Nannochloropsis* sp.

Sumber Keragaman	Derajat Kebebasan	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	P
Radiasi	4	0,15716	0,03929	33,49	0,000
Eror	10	0,01173	0,00117		
Total	14	0,16889			

Hasil uji lanjutan dengan uji Tukey pengaruh iradiasi sinar Gamma ^{60}Co terhadap biomassa *Nannochloropsis* sp.

Radiasi	N	Rata-rata	Grup
0 Gy	3	0,06667	A

2 Gy	3	0,12000	AB
4 Gy	3	0,19000	B
6 Gy	3	0,31000	C
10 Gy	3	0,32667	C

Hasil uji Anova pengaruh iradiasi sinar Gamma ^{60}Co terhadap total lipid *Nannochloropsis* sp.

Sumber Keragaman	Derajat Kebebasan	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	P
Radiasi	4	1935,1	483,8	6,85	0,011
Eror	8	565,1	70,6		
Total	12	2500,3			

Hasil uji lanjutan dengan uji Tukey pengaruh iradiasi sinar Gamma ^{60}Co terhadap total lipid *Nannochloropsis* sp.

Radiasi	N	Rata-rata	Grup
0 Gy	3	32,4	A
2 Gy	3	26,3	A
4 Gy	3	34,2	A
6 Gy	3	46,7	AB
10 Gy	3	62,6	B

Lampiran 3. Dokumentasi Penelitian



Sterilisasi alat dan media kultur



Inokulasi kultur mikroalga



Kultur mikroalga dengan perlakuan



Iradiasi mikroalga



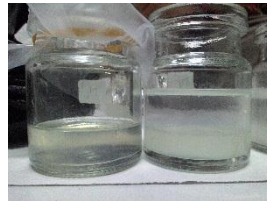
Sentrifugasi sel mikroalga



Sonikasi sel mikroalga



Hasil sentrifugasi mikroalga



Mikroalga yang telah ditambahkan dengan methanol, kloroform dan akuades.



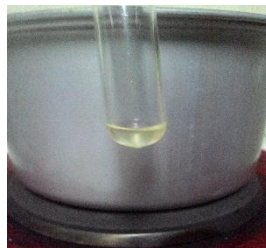
Proses Pemanenan biomassa mikroalga



Berat awal kertas saring

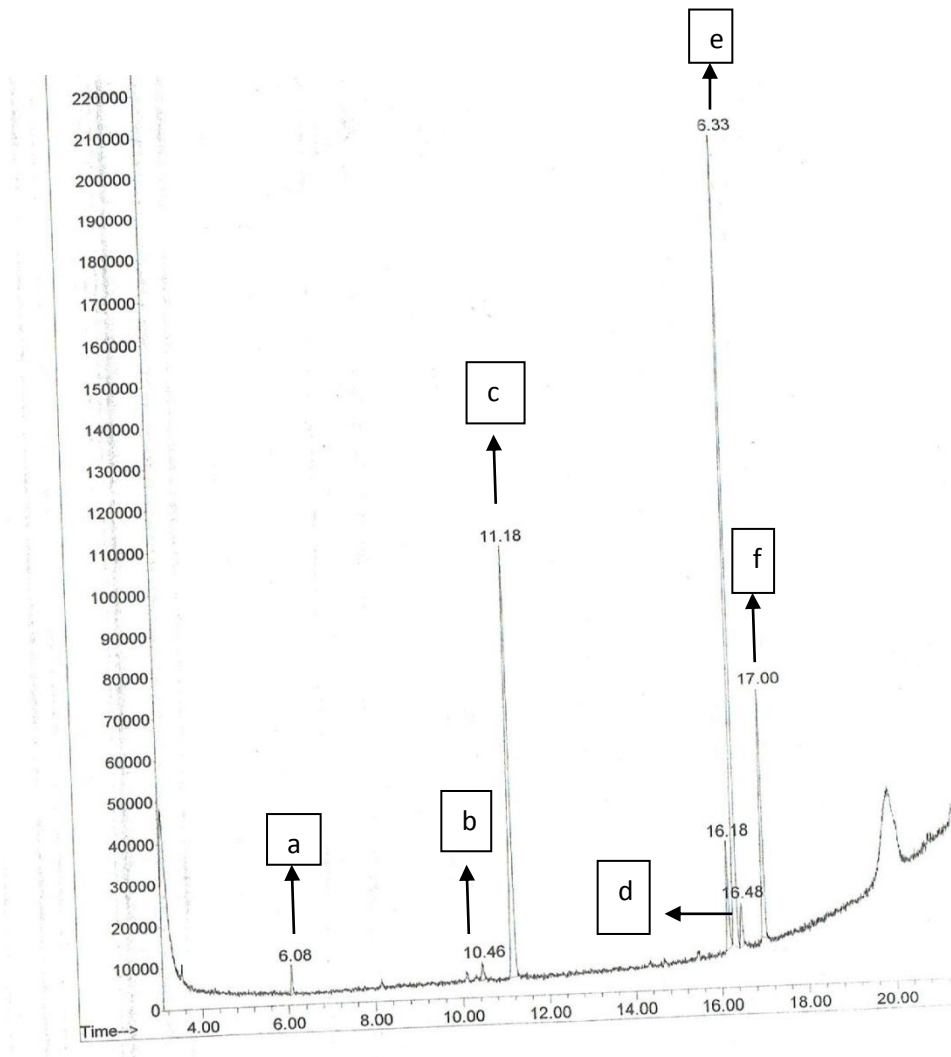


Penimbangan berat akhir kertas saring setelah dioven



Lipid mikroalga

Lampiran. 4 Hasil analisis GC-MS pada mikroalga *Nannochloropsis* sp. yang tidak diberi perlakuan iradiasi



Keterangan gambar

huruf	asam lemak
a	asam miristat
b	asam palmitoleat
c	asam palmitat
d	asam 9,12 oktadehiensat
e	asam oleat
f	asam stearat

Data analisis asam lemak yang didapatkan dari mikroalga *Nannochloropsis* sp. yang tidak diiradiasi

Area Percent Report

Data Path : C:\MSDCHEM\1\DATA\PROFILING\
 Data File : 15011601.D
 Acq On : 15 Jan 2016 10:06
 Operator : C001
 Sample : Sampel 1-23
 Misc : 1uL split 1:25, pengenceran 5x
 ALS Vial : 31 Sample Multiplier: 1

Integration Parameters: rteint.p

Integrator: RTE

Smoothing : ON

Sampling : 1

Start Thrs: 0.2

Stop Thrs : 0

Filtering: 5

Min Area: 2 % of largest Peak

Max Peaks: 100

Peak Location: TOP

If leading or trailing edge < 100 prefer < Tangent else baseline drop >

Peak separation: 5

Method : C:\MSDCHEM\1\METHODS\PROFILE1.M
 Title :

Signal : TIC

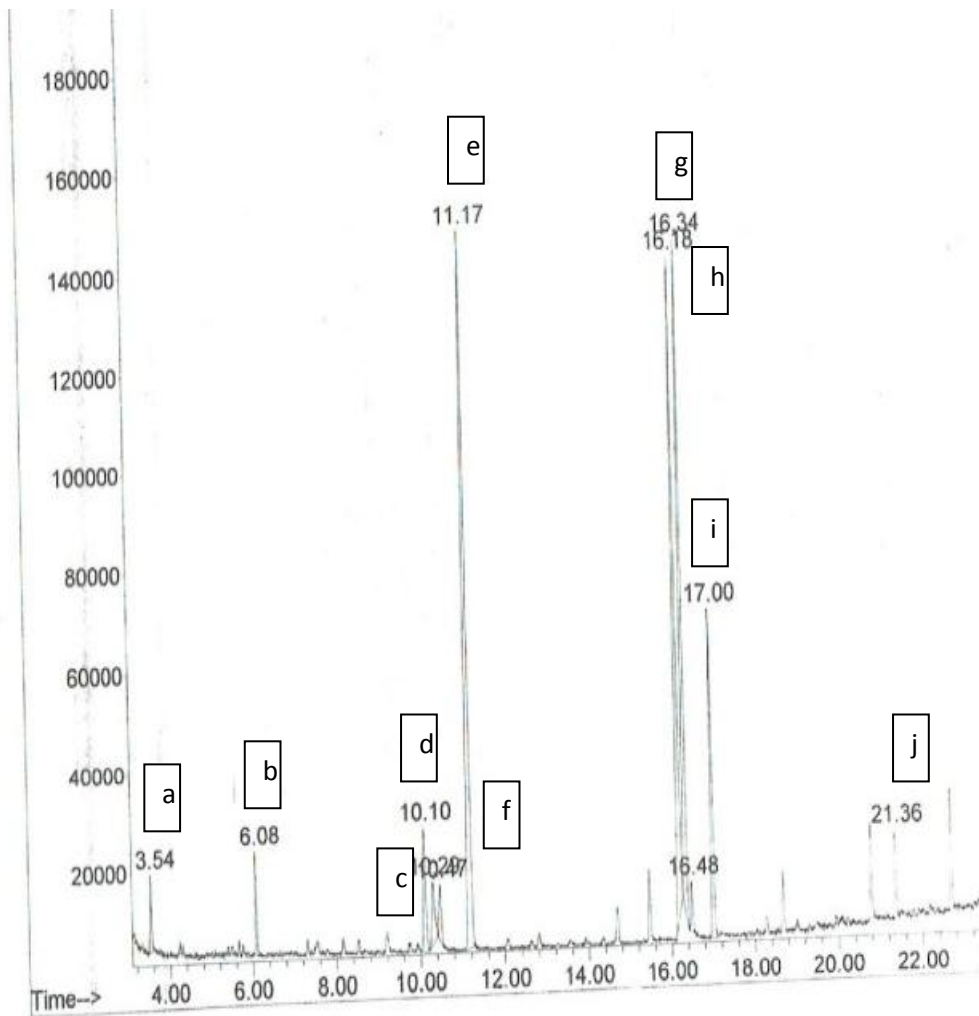
peak #	R.T. min	first scan	max scan	last scan	PK TY	peak height	corr. area	corr. % max.	% of total
1	6.075	618	629	640	rBB3	7119	16025	2.57%	1.148%
2	10.456	1539	1549	1560	rBB8	4606	13293	2.13%	0.952%
3	11.175	1678	1700	1720	rBB2	104553	429865	68.85%	30.801%
4	16.175	2738	2750	2768	rBB9	26422	82060	13.14%	5.880%
5	16.333	2769	2783	2803	rBB3	196563	624347	100.00%	44.736%
6	16.480	2803	2814	2826	rBB3	10824	37028	5.93%	2.653%
7	16.999	2910	2923	2937	rBB2	60579	193007	30.91%	13.829%

Sum of corrected areas: 1395625

PROFILE1.M Tue Jan 19 15:56:46 2016

Lampiran 5 Data analisis asam lemak yang didapatkan dari mikroalga *Nannochloropsis* sp. yang diiradiasi dengan dosis 10Gy

Keterangan gambar



huruf	asam lemak
a	asam kaprat
b	asam miristat
c	asam 7,0 hexadehadiensat
d	asam linoleat
e	asam palmitoleat
f	asam palmitat
g	asam 9,12 oktadehidiensat
h	asam oleat
i	asam stearat
j	asam arakhidat

Data analisis asam lemak yang didapatkan dari mikroalga
Nannochloropsis sp. yang diiradiasi dengan dosis 10Gy

Area Percent Report

Data Path : C:\MSDCHEM\1\DATA\PROFILING\
Data File : 15011604.D
Acq On : 15 Jan 2016 15:59
Operator : C001
Sample : Sampel 1-24
Misc : 1uL splitless
ALS Vial : 32 Sample Multiplier: 1

Integration Parameters: rteint.p

Integrator: RTE

Smoothing : ON

Sampling : 1

Start Thrs: 0.2

Stop Thrs : 0

Filtering: 5

Min Area: 2 % of largest Peak

Max Peaks: 100

Peak Location: TOP

If leading or trailing edge < 100 prefer < Tangent else baseline drop >
Peak separation: 5

Method : C:\MSDCHEM\1\METHODS\PROFILE1.M

Title :

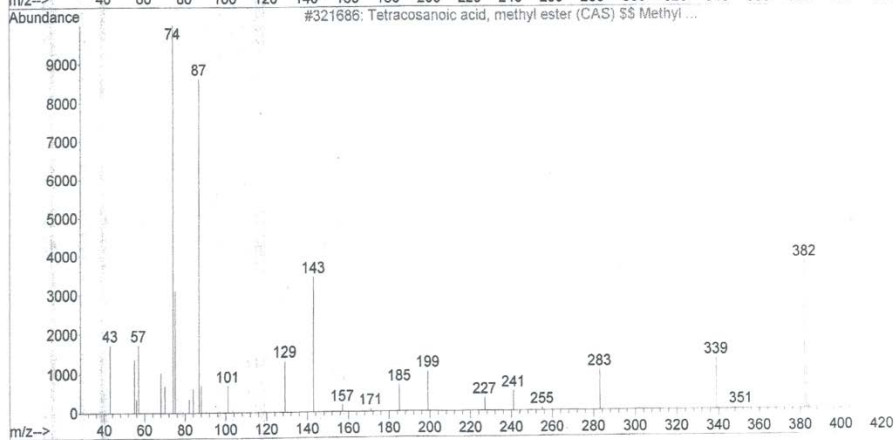
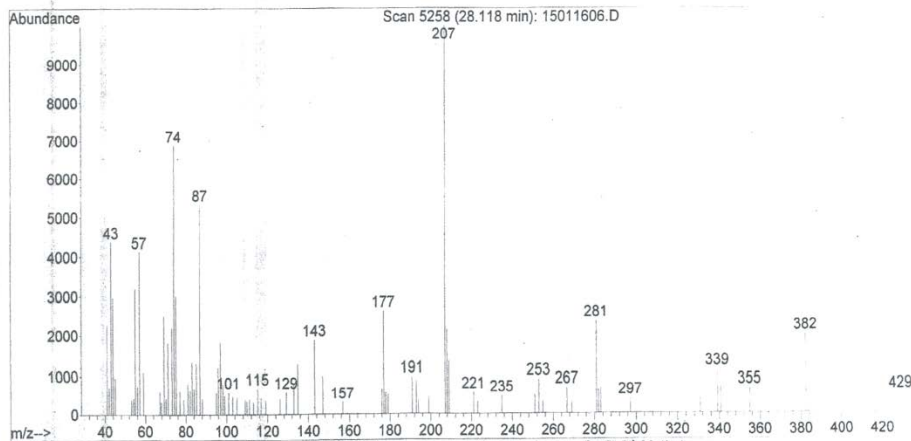
Signal : TIC

peak #	R.T. min	first scan	max scan	last scan	PK TY	peak height	corr. area	corr. % max.	% of total
1	3.537	84	96	108	rBB2	15726	35951	5.77%	1.711%
2	6.080	621	630	640	rBB3	21085	45040	7.23%	2.143%
3	10.099	1459	1474	1493	rBB8	25282	95842	15.38%	4.561%
4	10.294	1493	1515	1539	rBB8	12818	61610	9.89%	2.932%
5	10.470	1539	1552	1568	rBB10	11653	39562	6.35%	1.883%
6	11.170	1675	1699	1721	rBB3	145150	623191	100.00%	29.657%
7	16.175	2735	2750	2771	rBB4	134926	469374	75.32%	22.337%
8	16.337	2771	2784	2801	rBB7	136215	447333	71.78%	21.288%
9	16.485	2804	2815	2827	rBB9	10443	30973	4.97%	1.474%
10	16.999	2907	2923	2944	rBB3	66836	200550	32.18%	9.544%
11	21.361	3827	3839	3854	rBB4	18553	51891	8.33%	2.469%

Sum of corrected areas: 2101317

Lampiran 6 data standart penentuan asam lemak

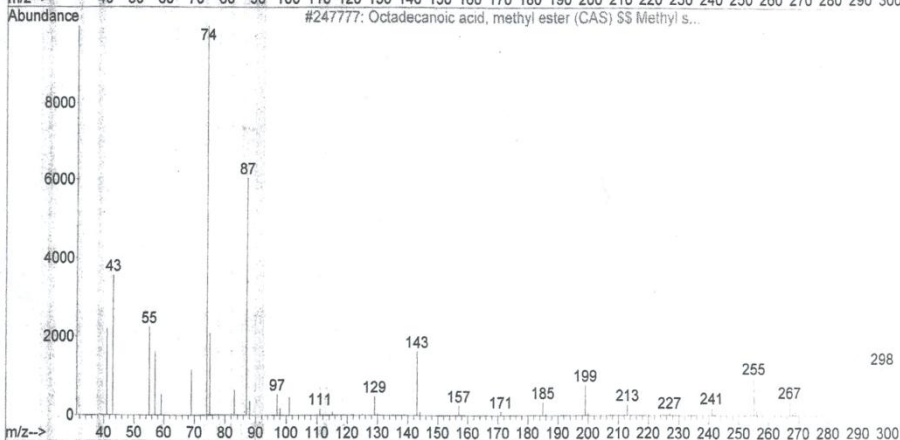
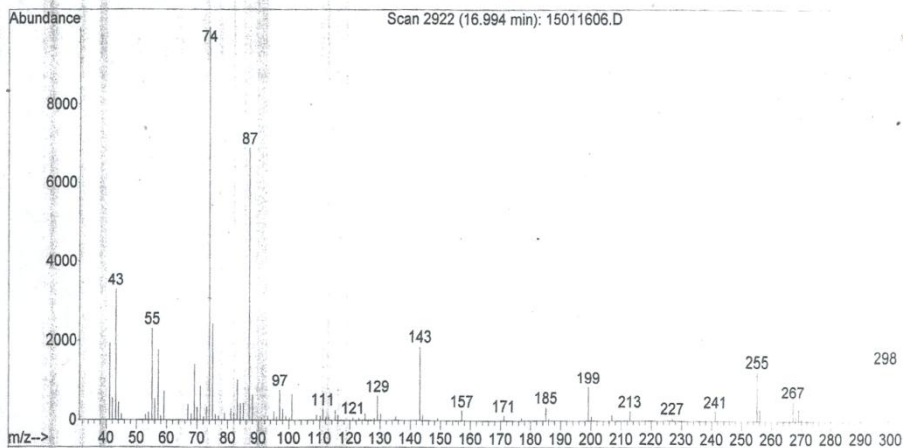
Library Searched : C:\Database\wiley7n.1
 Quality : 30
 ID : Tetracosanoic acid, methyl ester (CAS) \$\$ Methyl lignocerate \$\$ Methyl tetracosanoate \$\$ Lignoceric acid methyl ester \$\$ tetracosanoic (24 : 0) acid methyl ester



Library Searched : C:\Database\wiley7n.1

Quality : 99

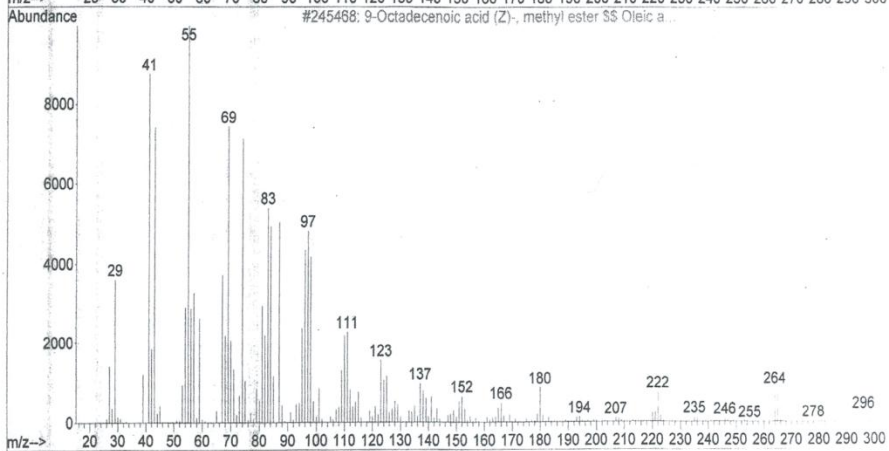
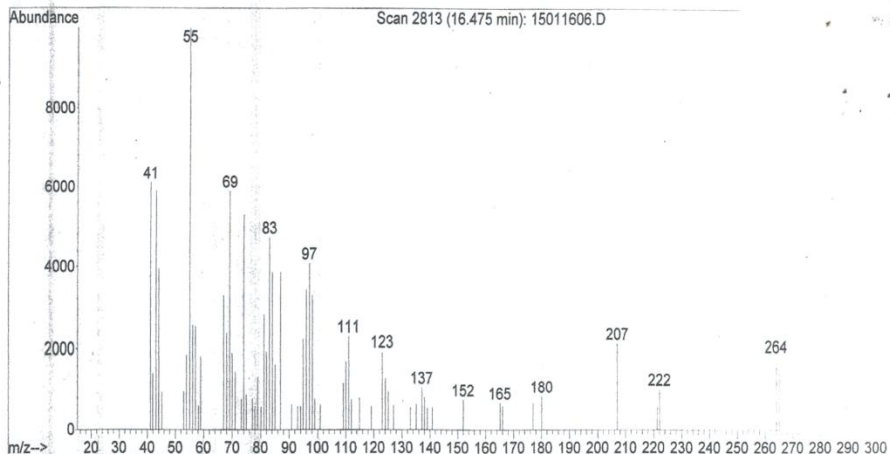
ID : Octadecanoic acid, methyl ester (CAS).\$\$ Methyl stearate
e \$\$ Methyl octadecanoate \$\$ Methyl n-octadecanoate \$\$
Stearic acid methyl ester \$\$ Kemester 9718 \$\$ Stearic acid,
methyl ester \$\$ n-Octadecanoic acid methyl ester \$
\$ Methyl-octadecanoate \$\$ Methyl es



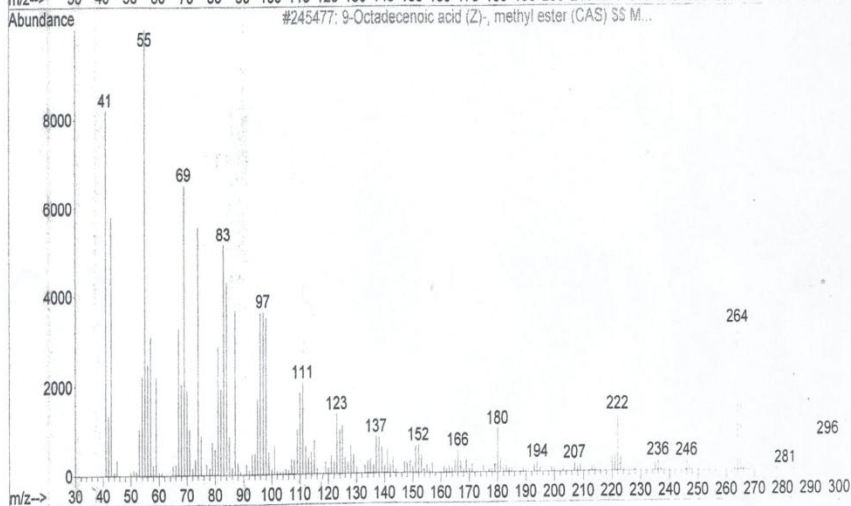
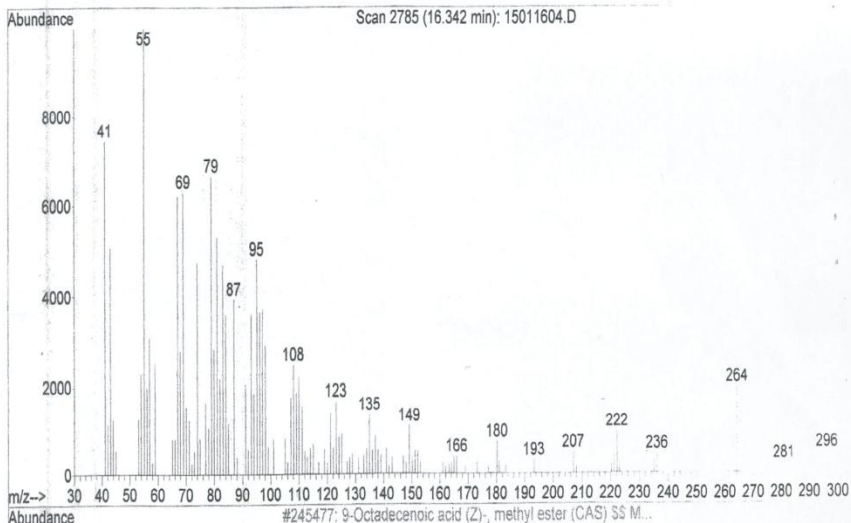
Library Searched : C:\Database\wiley7n.1

Quality : 93

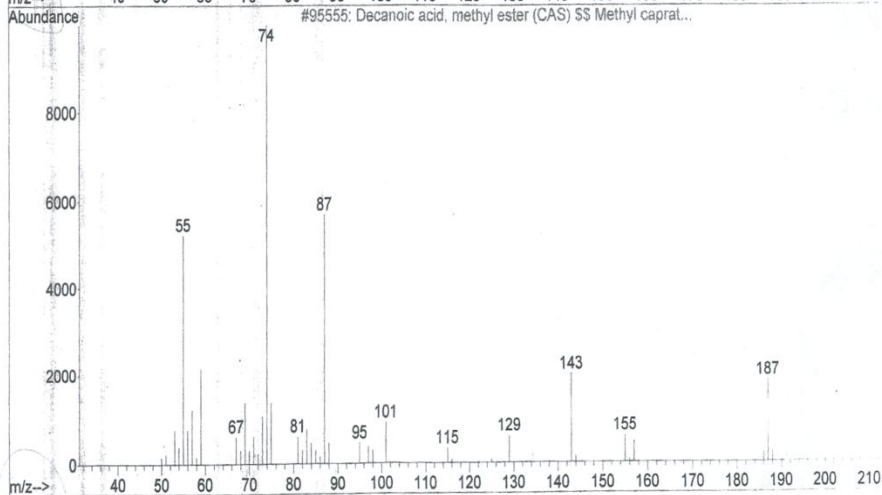
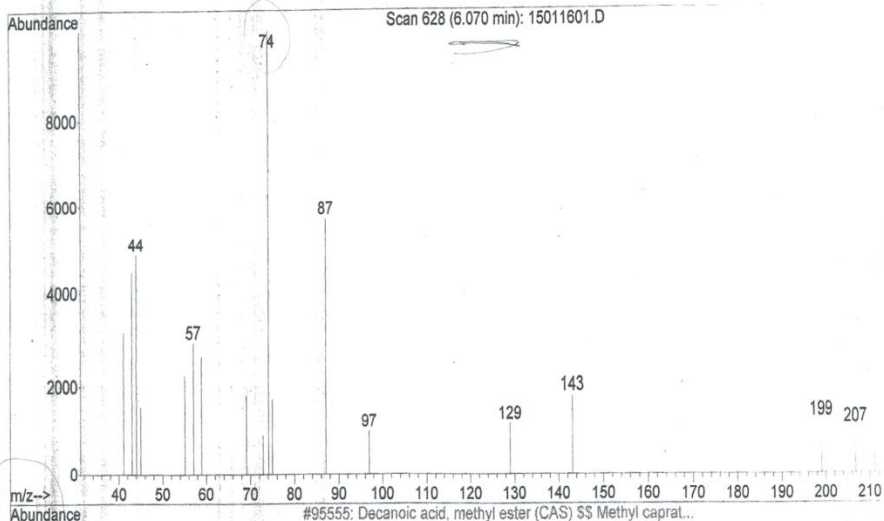
ID : 9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl ester \$\$ Oleic acid, methyl ester
ethyl ester \$\$ Emery oleic acid ester 2301 \$\$ Methyl 9-octadecenoate
s-9-octadecenoate \$\$ Methyl oleate \$\$ (Z)-9-Octadecenoic acid methyl ester
c acid methyl ester \$\$ Methyl-o-octadecenoate \$\$ cis-9-Octyldecenoic acid, methyl ester \$\$



Library Searched : C:\Database\wiley7n.1
Quality : 99
ID : 9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl ester (CAS) \$\$ Methyl
oleate \$\$ Methyl cis-9-octadecenoate \$\$ Oleic acid methyl
ester \$\$ Oleic acid, methyl ester \$\$ Emery oleic acid
d ester 2301 \$\$ OLEIC ACID-METHYL ESTER \$\$ (Z)-9-OCTADE
CENOIC ACID, METHYL ESTER \$\$ (Z)-9-



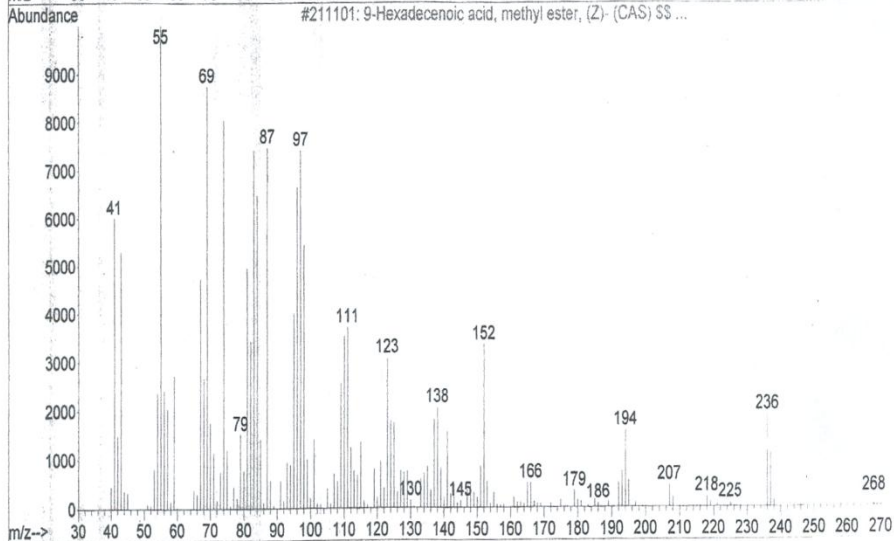
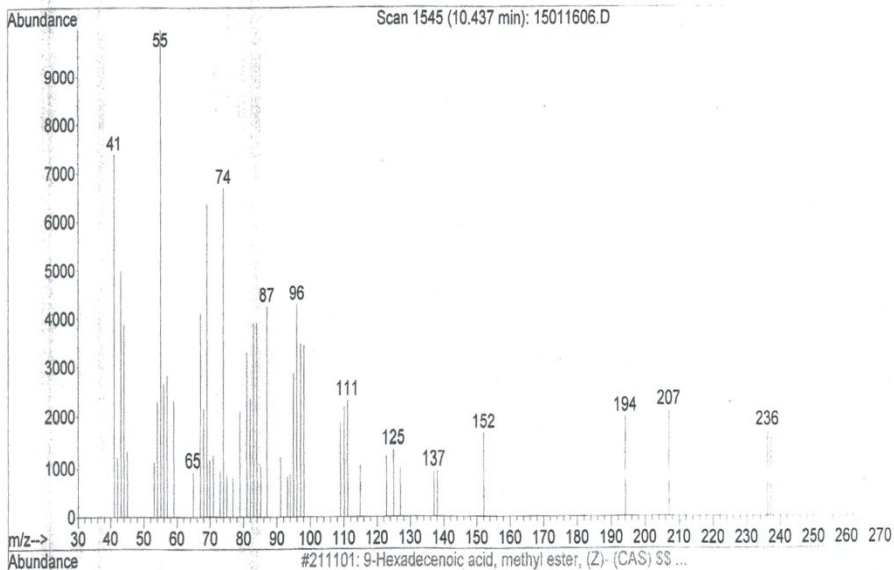
Library Searched : C:\Database\wiley7n.1
Quality : 59
ID : Decanoic acid, methyl ester (CAS) \$\$ Methyl caprate \$\$
Methyl decanoate \$\$ Capric acid methyl ester \$\$ Uniph
A30 \$\$ Metholene 2095 \$\$ Methyl caprinate \$\$ Methyl-n
caprate \$\$ Decanoic acid methyl ester \$\$ Methyl n-capri
te \$\$ Methyl n-decanoate \$\$ n-Capri



Library Searched : C:\Database\wiley7n.1

Quality : 87

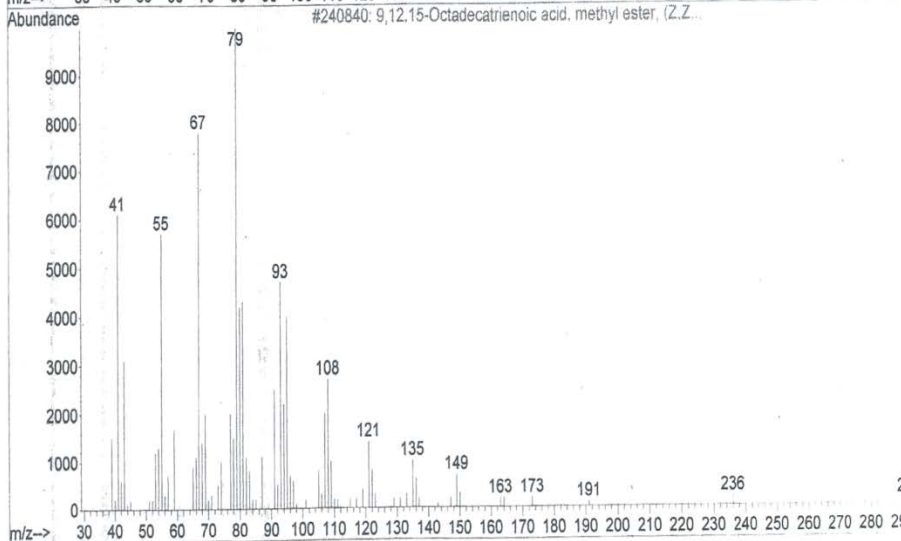
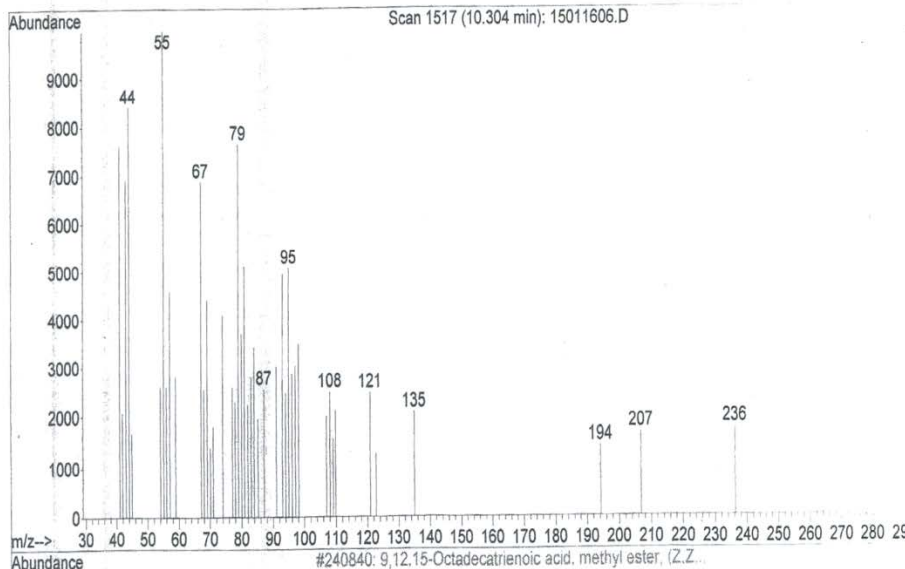
ID : 9-Hexadecenoic acid, methyl ester, (Z)- (CAS) \$\$ Methyl
palmitoleate \$\$ Methyl palmitoleinate \$\$ Palmitoleic
acid, methyl ester



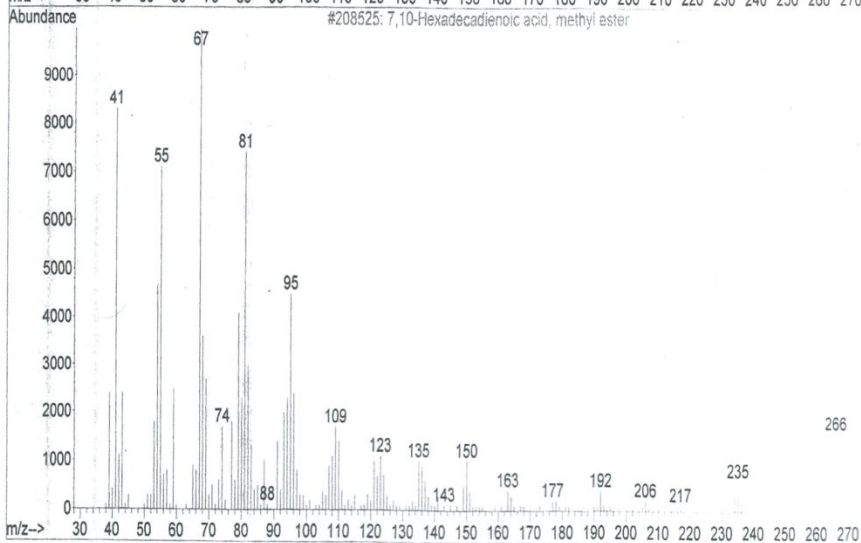
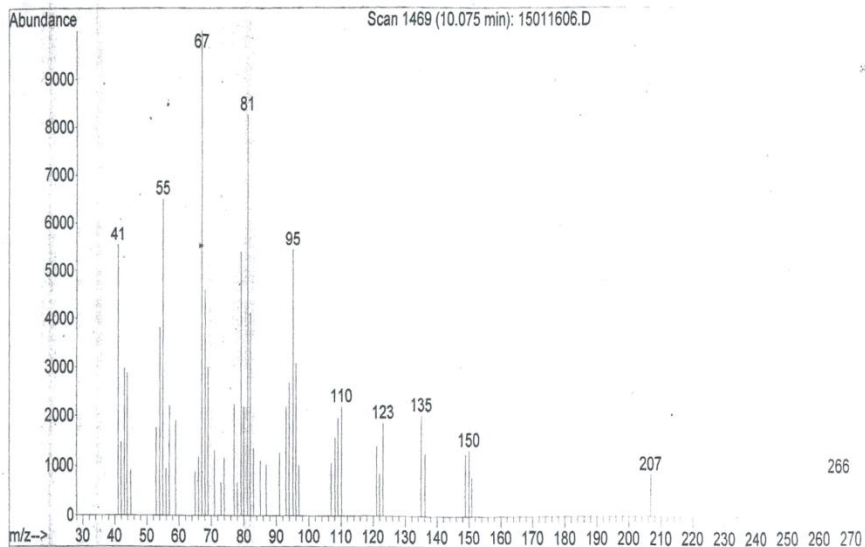
Library Searched : C:\Database\wiley7n.1

Quality : 35

ID : 9,12,15-Octadecatrienoic acid, methyl ester, (Z,Z,Z)
\$ Linolenic acid, methyl ester \$\$ Methyl all-cis-9,12,15-octadecatrienoate \$\$ Methyl linolenate



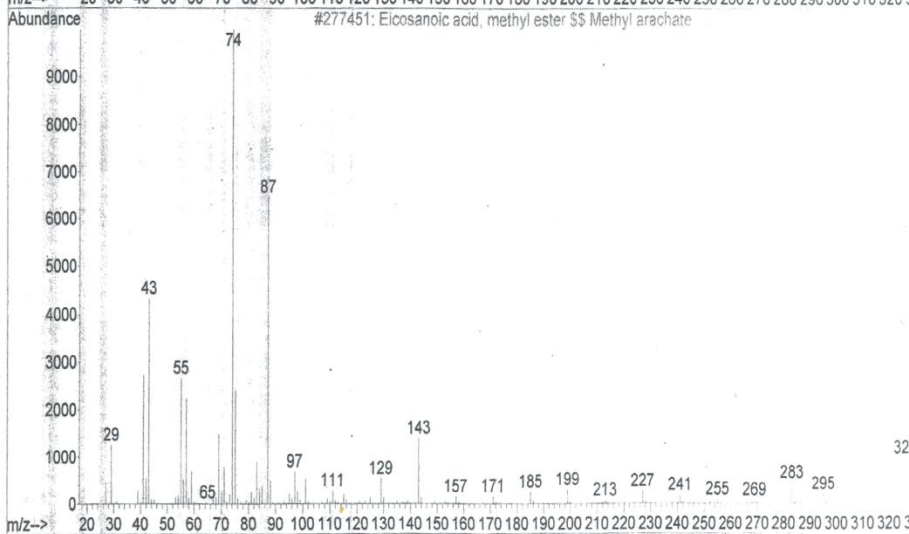
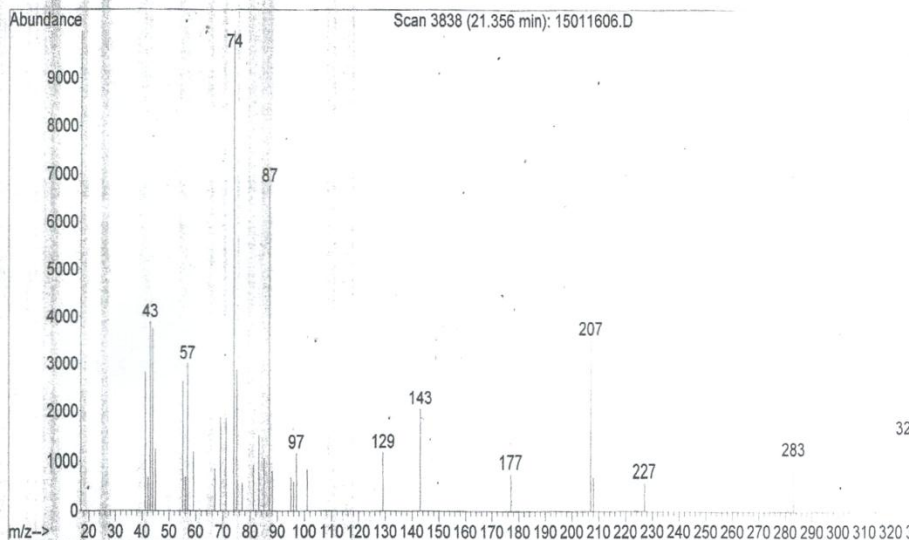
Library Searched : C:\Database\wiley7n.l
Quality : 99
ID : 7,10-Hexadecadienoic acid, methyl ester



Library Searched : C:\Database\wiley7n.1

Quality : 94

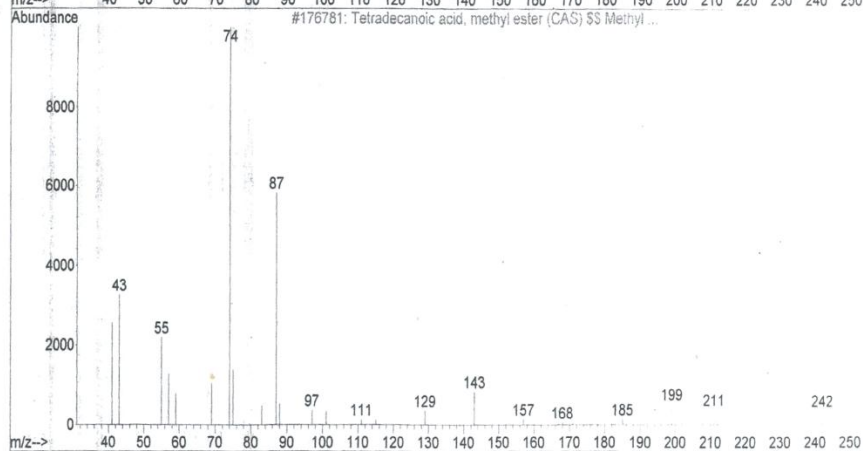
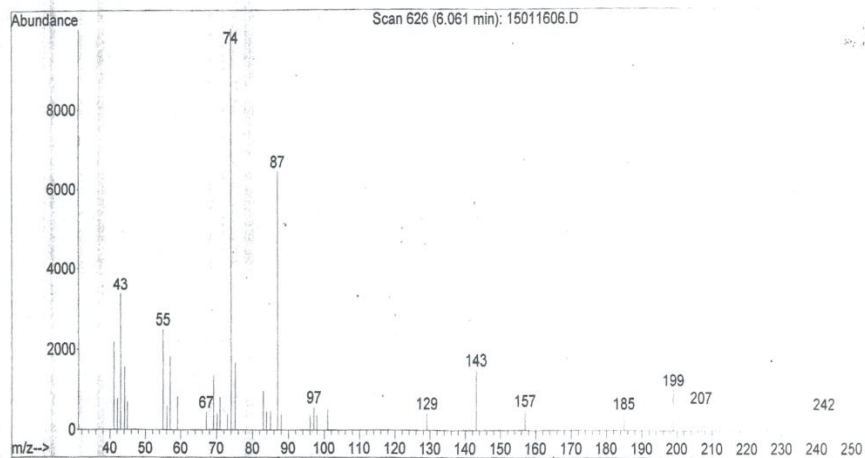
ID : Eicosanoic acid, methyl ester \$\$ Methyl arachate \$\$
hyl eicosanoate \$\$ Arachidic acid methyl ester



Library Searched : C:\Database\wiley7n.1

Quality : 94

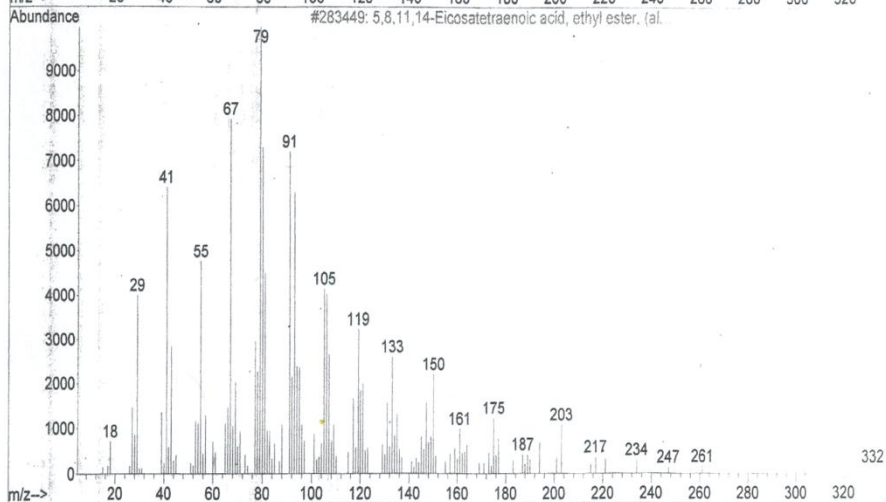
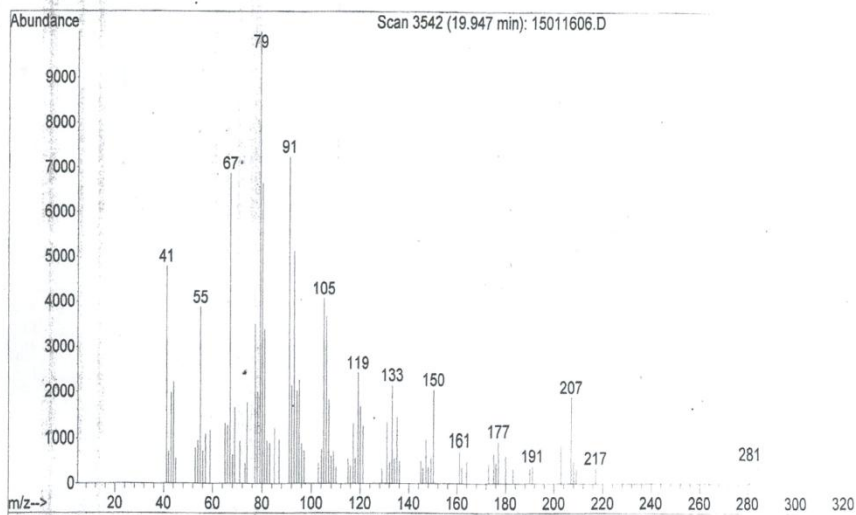
ID : Tetradecanoic acid, methyl ester (CAS) \$\$ Methyl myristate \$\$ Methyl tetradecanoate \$\$ Methyl n-tetradecanoate \$\$ Myristic acid methyl ester \$\$ Uniphat A50 \$\$ Metholeneat 2495 \$\$ Myristic acid, methyl ester \$\$ Tetradecanoic acid methyl ester \$\$ MYRISTIC A



Library Searched : C:\Database\wiley7n.1

Quality : 94

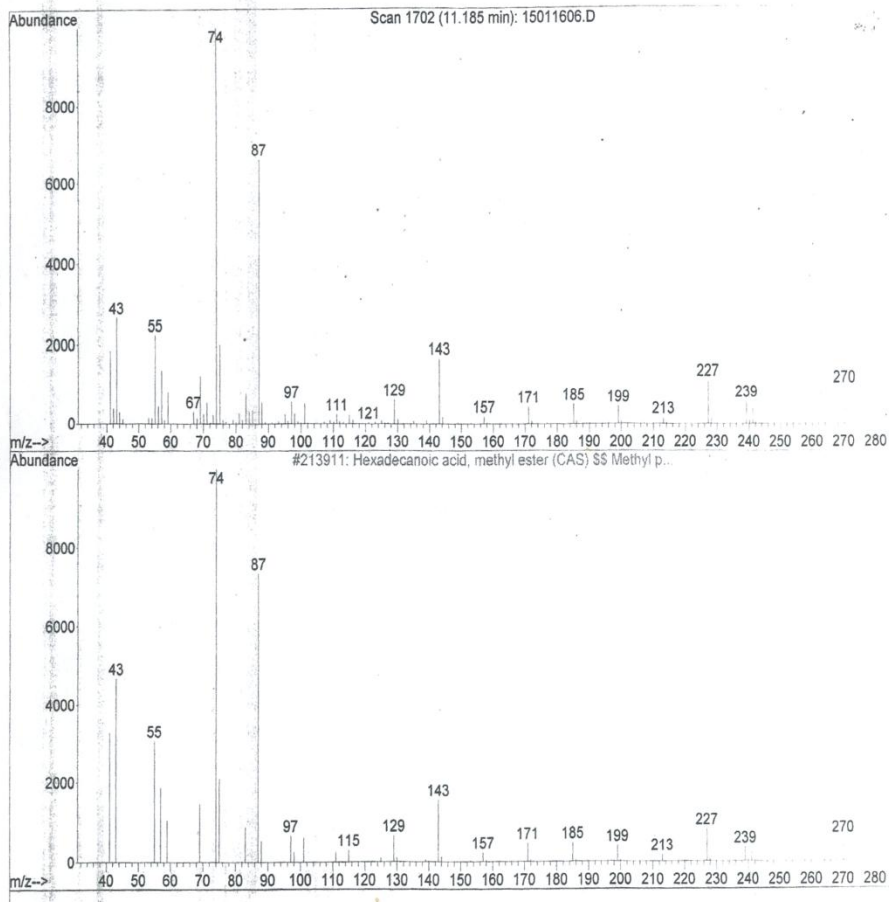
ID : 5,8,11,14-Eicosatetraenoic acid, ethyl ester, (all-Z)-
\$\$ Arachidonic acid, ethyl ester \$\$ Ethyl arachidonate



Library Searched : C:\Database\wiley7n.1

Quality : 98

ID : Hexadecanoic acid, methyl ester (CAS). \$\$ Methyl palmitate
te \$\$ Methyl hexadecanoate \$\$ Methyl n-hexadecanoate \$\$
Uniphat A60 \$\$ Metholene 2216 \$\$ Palmitic acid methyl
ester \$\$ Palmitic acid, methyl ester \$\$ n-Hexadecanoic
acid methyl ester \$\$ PALMITIC ACID-



BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian “Pengaruh Iradiasi Sinar Gamma pada Mikroalga *Nannochloropsis* sp. terhadap Pertumbuhan dan Kandungan Total Lipid” dapat disimpulkan bahwa iradiasi sinar Gamma berpengaruh terhadap peningkatan biomassa dan kandungan lipid total mikroalga *Nannochloropsis* sp. dan dosis yang paling optimal yang digunakan adalah 6 dan 10 Gy. Biomassa mikroalga *Nannochloropsis* sp. mengalami peningkatan dan kandungan biomassa tertinggi terdapat pada perlakuan iradiasi dengan dosis 10 Gy yaitu sebesar 0,033 gram. Kandungan total lipid tertinggi terdapat pada mikroalga *Nannochloropsis* sp yang diiradiasi menggunakan dosis 10 Gy yaitu sebesar 62,65%. Mikroalga *Nannochloropsis* sp. yang diiradiasi dengan dosis 10 Gy memiliki kandungan 9 jenis asam lemak dan mikroalga *Nannochloropsis* sp. yang tidak diiradiasi memiliki kandungan 6 jenis asam lemak.

5.2 Saran

Saran dari penelitian ini adalah diperlukan penelitian lanjutan mengenai profil protein mikroalga hasil iradiasi sinar Gamma ^{60}Co untuk mengetahui perubahan ekspresi proteinnya akibat induksi mutagenesis.

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

.

DAFTAR PUSTAKA

Ahloowalia, B.S., Maluzynski, and Nichterlein. 2004. **Global impact of mutation-derived varieties**. *Euphytica* 135:187-204.

Ahmad, A.L., Mat Yasin, N.H., Derek, C.J.C., Lim, J.K., 2011. Microalgae as a sustainable energy source for biodiesel production: a review. **Renewable Sustainable Energy Rev.** 15, 584–593.

Andersen, R.A. 2005. **Algal Culturing Techniques**. San Diego : Elsevier Inc.

Andriyono, S. 2001. Pengaruh periode penyinaran terhadap pertumbuhan *Isochrysis galbana* klon Tahiti. **Skripsi**. IPB. Bogor.

Anita, Natrici, Yusuf, M., dan Ferbriana. 2010. Pemanfaatan Molase sebagai Nutrient Pengkayaan pada Kultur *Nannochloropsis* sp. **Lentera Bio**. 1 : 55-61

Anon, S.M.A.T., Kocer, M.T., and Erbas, H. 2009. Studies on Growth Marine Microalgae in Batch Cultures: III. *Nannochloropsis oculata* (Eustigmatophyta). **Asian Journal of Plant Sciences**. 4 : 642-644.

Ayustama, A. 2007. **Proses Produksi Mikroalga dalam Photobioreaktor Mini Pond secara Batch untuk Bahan Bakar Biodiesel**. Semarang : Universitas Diponegoro.

Balai Budidaya Air Payau. 2013. **Standart Operasional Prosedur BBAP Situbondo**. Situbondo : Direktorat Jendral

Perikanan dan Budidaya Kementrian Kelautan dan Perikanan.

Barus, T. A. 2004. **Pengantar Limnologi Studi Tentang Ekosistem Air Daratan**. Medan: USU Press.

Bligh, E.G. and Dyer, W. J. 1959. A rapid method for total lipid extraction and purification. **Can.J.Biochem.Physiol.** 37 : 911 - 917.

Boyer, R. 2002. **Concepts in biochemistry. 2nd Edition**. Australia : Brooks / Cole Thomson Learning.

Briggs, M. 2004. **Widescale Biodiesel Production from Algae**. New York : Heidelberg.

Charbaji and I. Nabulsi. 1999. **Effect of low doses of gamma irradiation on *in vitro* growth of grapevine**. **Plant Cell Tiss. Org. Cult.** 57:129-132.

Chisti, Y. 2007. Biodiesel From Microalgae. **Biotechnology Advances.** 25 : 294-306.

Chisti, Y. 2008. Biodiesel from microalgae beats bioethanol. **Trends Biotech.** 26 : 126–131.

Dahlqvist, A.U., Stahl, M., Lenmen, A., Banas, M., Lee, I., Sandager, Ronne, H., and Stymne, S. 2000. Phospholipid diacylglycerol acyltransferase: an enzyme that catalyzes the acyl-coa-independent formation of triacylglycerol in yeast and plants. **Proceeding of national academy of sciences.** 97(12) : 6487-6492.

Doan, T.T.Y.,Obbard,J.P.,2012.Enhanced intracellular lipid in *Nannochloropsis* sp. via random mutagenesis and flow cytometric cell sorting.**Algal Res.**1(1),17– 21.

Duong, V.T., Li, Y., Nowak, E., and Schenk, M. 2012. Microalgae Isolation and Selection for Prospective Biodiesel Production. **Energies**. 5 : 1835-1849.

Gerpen, J.V. and Knothe, G.. 2005. **The Biodiesel Handbook**. Champaign : Aocs Press.

Gerpen, V.J. 2004. Biodiesel processing and production. **Fuel Processing Technology**. 86 : 1097– 1107.

Hoek, C.V.D., Mann, D.G., and Jahns, H.M.. 1998. **Algae:An Introduction to Phycology**. UK : Cambridge University Press.

Hossain, A.B.M., A. Salleh, A.N. Boyce, P.Chowdhury, M. And Naquiuddin. 2008. Biodiesel Fuel Production from Algae as Renewable Energy. **American Journal of Biochemistry and Biotechnology**. 4 :250-254.

Hu, H. and Gao, K. 2006. Response of growth and fatty acid compositions of *Nannochloropsis* sp. to environmental factors under elevated CO₂ concentration. **Biotechnol. Lett.**, 28: 987–992.

Hu, H., and Gao, K. 2004. Optimization Of Growth And Fatty Acid Composition Of a Unicellular Marine Picoplankton, *Nannochloropsis* Sp., With Enriched Carbon Sources. **Biotechnol Lett**. 25 : 421–425.

Hu, Q., Sommerfeld, M., Jarvis, E., Ghirardi, M., Posewitz, M., Seibert, M., and Darzins, A. 2008. Microalgal triacylglycerols as feedstocks for biofuel production: Perspectives and advances.

Isnansetyo, A., and Kurniastuty. 1995. **Teknik Kultur Phytoplankton Zooplankton. Pakan Alam untuk pembenihan organism laut**. Yogyakarta : Kanisius.

John Lilley, “Nuclear Physics: Principles and Applications”, John Wiley & Sons, 2001.

Kawaroe, M. 2010. **Mikroalgae untuk biofuel**. Bogor : Pusat Penelitian Surfactan dan Bioenergi, Institut Pertanian.

Li, Yanqun., Horsman, M., Wu, N., and Christopher, Q. 2008. Biofuels from Microalgae. **Biotechnol Prog.** 24 : 815-820

Maluzynski, M.K., L. Nichterlein, Van Zanten, and B.S. Ahloowalia. 2000. Officially released mutant varieties the FAO/IAEA database. **Mut. Breed.** Rev. 12:1-84.

McKee, T., and McKee, J.R. 2003. **Biochemistry: The Molecular Basis Of Life**. Edisi III. Boston: The McGraw-Hill. Hal. 68-71.

Mekhilef, S. 2010. A Review on Palm Oil Biodiesel as a Source of Renewable Fuel. **Renewable and Sustainable Energy Review** 15 : 1937-1949.

Ohlrogge J, and Browse, J. 1995. Lipid biosynthesis. **Plant Cell**. 7: 957–970. **Plant Journal**. 54 : 621–639.

Rostini, S. 2010. **Kultur Fitoplankton (*Chlorella sp.* dan *Tetraselis chuii*) pada Skala Laboratorium**. Jatinangor : Universitas Padjajaran.

S.S.,Harding, S.D.,Johnson, D.R.,Taylor, C.A.,Dixon, and M.Y.,Turay. 2012. Effect of Gamma Rays on Seed Germination, Seedling Height, Survival Percentage and Tiller Production in Some Rice Varieties Cultivated in Sierra Leone. **American Journal of Experimental Agriculture** 2(2): 247-255

Safitri, M.E., Diantari, R., Suparmono, dan Muhaemin, M.. 2013. Kandungan Lemak Total *Nannochloropsis sp.* pada Fotoperiode

yang Berbeda. **E-Jurnal Rekayasa dan Teknologi Budidaya Perairan**. 1 : 127-135.

Sasaki, M., Kasai, M., Yamamoto, Y., and Matsumoto, H. 1995. **Involvement of plasma membrane potential in tolerance mechanism of plant roots to aluminum toxicity**. Netherland.: Kluwer Acad. Publ.

Sing S., Rani A., dan Kumar M.R., 226Ra, Th and K Analysis in Soil Samples from Some Areas of Punjab and Himachal Pradesh, India Using Gamma Ray Spectrometry. ***Radiation Measurement***, No.39. pp. 431-439, (2005)

Soeranto, H. 2003. **Peran iptek nuklir dalam pemuliaan tanaman untuk mendukung industri pertanian**. Puslitbang Teknologi Isotop dan Radiasi, Badan Tenaga Nuklir Nasional (BATAN) p. 12 hal.

Soeranto, H. 2003. **Peran iptek nuklir dalam pemuliaan tanaman untuk mendukung industri pertanian**. Puslitbang Teknologi Isotop dan Radiasi, Badan Tenaga Nuklir Nasional (BATAN).

Su,
C.H.,Chien,L.J.,Gomes,J.,Lin,Y.S.,Yu,Y.K.,Liou,J.S.,Syu,R.J.,2011.Factors affecting lipid accumulation by *Nannochloropsis oculata* in atwo-stage cultivation process. *J.Appl.Phycol*.23,903–908.

Sukenik, A. 1999. **Production of eicosapentaenoic acid by the marine eustigmatophyte *Nannochloropsis*, in Chemicals from Microalgae**. London : Taylor & Francis.

Teresa, M. M., Antonio, A. M. and Caetano, N.S. 2010, Microalgae for Biodiesel Production and Other Applications: A Review. ***Renewable and Sustainable Energy***. 14 217-232

Uju dan Wahyuni, M.. 2007. **Pengembangan Marine Biodiesel Dari Mikroalga Sebagai Sumber Energi Alternatif Potensial Masa Depan.** Malang : Universitas Brawijaya.

Zahara, T., Ali, M., Salam A., and Sarima, J. 2003. Studies on Biodiversity in relation to seasonal variations in water of River Indus at Ghazi Ghatt, Punjab, Pakistan. **Pakistan Journal of Biological Sciences.** 6 (21) : 1840 – 1844.

Zuhdi, M. F. A., Gerianto, I., dan Budiono, T. 2005. **Biodiesel Sebagai Alternatif Pengganti Bahan Bakar Fosil Pada Motor Diesel. Laporan Riset. RUT VIII Bidang Teknologi.** Jakarta : Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. Kementerian Riset dan Teknologi RI.

RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan pada 22 Oktober 1994 di Nganjuk dari pasangan Nyoto Utomo dan Saodah. Setelah lulus dari SMAN 1 Kertosono penulis melanjutkan jenjang sarjana di Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS)

Surabaya. Selama kuliah penulis aktif dalam organisasi seperti menjadi anggota Departemen Pengembangan Sumber Daya Mahasiswa (PSDM), Himpunan Mahasiswa Biologi ITS 2013/2014. Penulis turut aktif dalam berbagai aktivitas dan kompetisi ilmiah seperti menjadi asisten laboratorium mata kuliah Struktur Perkembangan Tanaman 1 2013/2014, asisten laboratorium mata kuliah Sistematika Tumbuhan 2015/2016 dan asisten laboratorium mata kuliah Fisiologi Tumbuhan 2015/2016. Untuk menyelesaikan studi dan memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si) di Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, ITS penulis menyusun sebuah Tugas Akhir dengan judul **“IRADIASI SINAR GAMMA TERHADAP MIKROALGA *Nannochloropsis* sp. UNTUK MENINGKATKAN KANDUNGAN BIOMASSA DAN TOTAL LIPID”**